

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH PARE  
(*Momordica charantia* L.) TERHADAP PENURUNAN  
EKSPRESI TNF- $\alpha$  DAN ANGKA KEJADIAN ANEMIA PADA  
MENCIT BALB/C YANG DIINFEKSI *Plasmodium berghei***

**SKRIPSI**

**Oleh:  
NUR IEDHA TERTIANA  
NIM 17910027**



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH PARE  
(*Momordica charantia* L) TERHADAP PENURUNAN EKSPRESI  
TNF- $\alpha$  DAN ANGKA KEJADIAN ANEMIA PADA MENCIT  
BALB/C YANG DIINFEKSI *Plasmodium berghei***

**SKRIPSI**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
Universitas Islam Negeri  
Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran (S.Ked)**

**Oleh:  
NUR IEDHA TERTIANA  
NIM. 17910027**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2021**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH PARE  
(*Momordica charantia* L) TERHADAP PENURUNAN EKSPRESI  
TNF- $\alpha$  DAN ANGKA KEJADIAN ANEMIA PADA MENCIT  
BALB/C YANG DIINFEKSI *Plasmodium berghei***

**SKRIPSI**

Oleh:  
**NUR IEDHA TERTIANA**  
**NIM. 17910027**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:  
Tanggal: 9 Juni 2021

Pembimbing 1,



Dr. Zainabur Rahmah, S.Si., M.Si  
NIDT. 1981020720 170101 2 122

Pembimbing II,



dr. Amalia Tri Utami, M.Biomed  
NIP. 19910411 20170101 2 108

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Ana Rahmawati, M. Biomed  
NIP. 19741203 200912 2 001

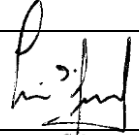
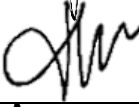

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH PARE  
(*Momordica charantia L.*) TERHADAP PENURUNAN  
EKSPRESI TNF- $\alpha$  DAN ANGKA KEJADIAN ANEMIA PADA  
MENCIT BALB/C YANG DIINFEKSI *Plasmodium berghei***

**SKRIPSI**

**Oleh:  
NUR IEDHA TERTIANA  
NIM 17910027**

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi  
dan Dinyatakan Diterima sebagai Salah Satu Persyaratan  
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran (S. Ked)

Tanggal: 9 Juni 2021

Penguji Utama	<u>dr. Alvi Milliana, M. Biomed</u> NIP. 19820404 201101 2 011	
Ketua Penguji	<u>dr. Amalia Tri Utami, M. Biomed</u> NIP. 19910411 20170101 2 108	
Sekretaris Penguji	<u>Dr. Zainabur Rahmah M. Si</u> NIDT. 19810207201701012122	

Mengesahkan,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

  
dr. Ana Rahmawati, M. Biomed  
NIP. 19741203 200912 2 001

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nur Iedha Tertiana

NIM : 17910027

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 1 Juni 2021

Yang membuat pernyataan,



Nur Iedha Tertiana

NIM. 17910027

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr. Wb*

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik sebagai salah satu langkah untuk menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

Selanjutnya, penulis mengucapkan terimakasih kepada seluruh pihak yang telah membantu penulis dengan memberikan bimbingan, dukungan, dan bantuan baik secara langsung maupun tidak langsung dalam terwujudnya skripsi ini. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Prof. DR. Abd. Haris, M.Ag, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati Prabowowati Wadjib, M. Kes, Sp. Rad (K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
3. dr. Ana Rahmawati, M. Biomed, selaku ketua Program Studi Pendidikan Dokter UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Dr. Zainabur Rahmah, M.Si dan dr. Amalia Tri Utami, M. Biomed, selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan ilmu, arahan, dan bimbingan yang berarti bagi penulis dalam menyusun skripsi
5. dr. Alvi Milliana, M. Biomed, selaku penguji utama yang telah banyak memberikan arahan dan petunjuk untuk memperbaiki skripsi ini

6. Orang tua dan Adikku tercinta yang senantiasa memberikan doa, dukungan, serta restu kepada penulis dalam menuntut ilmu
7. Dina Absharina Wulandari selaku rekan dalam penelitian skripsi ini yang telah melewati suka dan duka bersama-sama
8. Azka Faradiba Anjani Hulayya selaku teman yang senantiasa saling memberikan semangat dan motivasi dalam menyelesaikan skripsi ini
9. Sahabat-sahabatku Dieny, Qonitah, Abib, Lindi, dan Nia yang selalu ada untuk penulis dan tidak hentinya memberikan dukungan bagi penulis
10. Teman-teman CLAUSTRUM 2017 yang selalu menyemangati dan menjadi tempat berbagi canda dan tawa selama menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran UIN Maulana Malik Ibrahim Malang
11. K-drama dan tokoh Han Ji Pyeong yang telah menemani dan menjadi penghibur penulis ketika proses penulisan skripsi
12. Serta semua pihak yang telah membantu dalam penulisan skripsi ini

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karenanya penulis mengharapkan masukan yang membangun dari semua pihak demi menyempurnakan skripsi ini. Penulis juga berharap skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya kepada penulis secara pribadi. *Aamin Yaa Rabbal 'Alamiin.*

*Wassalamu'alaikum Wr. Wb*

Malang, 18 Juni 2021

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL.....</b>	
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	
<b>PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN.....</b>	
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	
<b>DAFTAR ISI.....</b>	
<b>DAFTAR TABEL.....</b>	
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	
<b>ABSTRAK.....</b>	
<b>ABSTRACT.....</b>	
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang.....	1
2.1 Rumusan Masalah.....	6
3.1 Tujuan Penelitian.....	7
4.1 Manfaat Penelitian.....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Definisi dan Epidemiologi Malaria.....	9
2.2 Etiologi Malaria.....	9
2.3 Patofisiologi pada Infeksi Malaria.....	18
2.3.1 Stadium Preeritrositik Malaria.....	18
2.3.2 Stadium Eritrositik Malaria.....	21
2.3.3 Respon Imun pada Infeksi Malaria.....	25
2.3.4 <i>Plasmodium falciparum</i> Enoyl acyl Carrier Protein Reductase (PfENR) .....	27
2.4 Manifestasi Klinis Malaria.....	28
2.5 Diagnosis Malaria.....	32
2.6 Obat Antimalaria.....	34
2.7 <i>Plasmodium berghei</i> .....	37
2.8 <i>Momordica charantia</i> L.....	38
2.8.1 Taksonomi dan Morfologi Pare.....	38
2.8.2 Kandungan Senyawa Fitokimia pada Pare.....	39
2.8.3 Aktivitas Farmakologi Pare.....	40
2.8 Kerangka Teori.....	45
<b>BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS</b>	
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	49
3.2 Hipotesis Penelitian.....	50
<b>BAB IV METODE PENELITIAN</b>	
4.1 Desain Penelitian.....	51
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	51
4.3 Populasi Penelitian.....	52
4.4 Sampel Penelitian.....	52
4.4.1 Penentuan Besar Sampel.....	52
4.4.2 Teknik Pengambilan Sampel.....	53



4.4.3 Karakteristik Sampel.....	53
4.4.3.1 Kriteria Inklusi.....	53
4.4.3.2 Kriteria Eksklusi.....	53
4.5 Alat dan Bahan Penelitian.....	53
4.5.1 Perawatan Mencit.....	53
4.5.2 Pembuatan Ekstrak Pare.....	53
4.5.3 Inokulasi <i>Plasmodium berghei</i> .....	54
4.5.4 Pengukuran Derajat Parasitemia dan Jumlah Eritrosit.....	54
4.5.5 Pengambilan Sampel Hati (Pembedahan Mencit).....	54
4.6 Definisi Operasional.....	55
4.7 Prosedur Penelitian.....	56
4.7.1 Sampel Mencit.....	56
4.7.2 Pembuatan Ekstrak Buah Pare.....	56
4.7.3 Infeksi <i>Plasmodium berghei</i> Galur ANKA.....	56
4.7.4 Pembuatan Apusan Darah dan Pengecatan Giemsa.....	57
4.7.5 Isolasi Darah dan Hati.....	57
4.7.6 Pembuatan Slide Histologi.....	57
4.7.7 Pemeriksaan TNF- $\alpha$ pada Organ Hati.....	59
4.7.8 Pemeriksaan Anemia.....	60
4.8 Alur Penelitian.....	62
4.9 Analisis Data.....	63
4.10 Etika Penelitian.....	63
<b>BAB V HASIL PENELITIAN</b>	
5.1 Hasil Penimbangan Berat Badan Hewan Coba.....	65
5.2 Hasil Perhitungan Rata-Rata Derajat Parasitemia Hewan Coba.....	66
5.3 Analisis Pengaruh Pemberian Eksrak Buah Pare ( <i>Momordica charantia</i> L.) Terhadap Penurunan Ekspresi TNF- $\alpha$ pada Mencit Balb/c yang Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i> .....	67
5.4 Analisis Pengaruh Pemberian Eksrak Buah Pare ( <i>Momordica charantia</i> L.) Terhadap Penurunan Angka Kejadian Anemia pada Mencit Balb/c yang Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i> .....	72
5.5 Analisis Hubungan Ekspresi TNF- $\alpha$ dan Angka Kejadian Anemia.....	73
<b>BAB VI PEMBAHASAN</b>	
6.1 Pengaruh Pemberian Eksrak Buah Pare ( <i>Momordica charantia</i> L.) Terhadap Penurunan Ekspresi TNF- $\alpha$ pada Mencit Balb/c yang Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i> .....	75
6.2 Pengaruh Pemberian Eksrak Buah Pare ( <i>Momordica charantia</i> L.) Terhadap Angka Kejadian Anemia pada Mencit Balb/c yang Diinfeksi <i>Plasmodium berghei</i> .....	78
6.3 Integrasi Keislaman Penelitian.....	81
<b>BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
7.1 Kesimpulan.....	84
7.2 Saran.....	84
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	
<b>LAMPIRAN</b>	

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Perbedaan Antar Jenis <i>Plasmodium</i> Penyebab Malaria.....	17
Tabel 5.1 Ekspresi TNF- $\alpha$ Pada Hati Mencit.....	69
Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i> dan Uji Homogenitas Ragam <i>Levene</i> pada Ekspresi TNF- $\alpha$ .....	70
Tabel 5.3 Hasil Uji ANOVA terhadap Ekspresi TNF- $\alpha$ .....	71
Tabel 5.4 Hasil Uji BNT terhadap Ekspresi TNF- $\alpha$ .....	71
Tabel 5.5 Hasil Deskripsi Angka Kejadian Anemia.....	72
Tabel 5.6 Hasil Uji <i>Kruskal Wallis</i> terhadap Angka Kejadian Anemia.....	73
Tabel 5.7 Hasil Uji Korelasi Spearman TNF- $\alpha$ dan Angka Kejadian Anemia....	74

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Siklus Hidup <i>Plasmodium</i> .....	9
Gambar 2.2 Stadium ring muda ( <i>ring form</i> ) <i>P. falciparum</i> pada sediaan apusan darah tipis .....	11
Gambar 2.3 Stadium ring tua ( <i>ring form</i> ) <i>P. falciparum</i> pada sediaan apusan darah tipis.....	12
Gambar 2.4 Stadium trophozoit muda <i>P. falciparum</i> pada sediaan apusan darah tipis.....	12
Gambar 2.5 Stadium trophozoit tua <i>P. falciparum</i> pada sediaan apusan darah tipis.....	12
Gambar 2.6 Stadium skizon muda <i>P. falciparum</i> pada sediaan apusan darah tipis.....	13
Gambar 2.7 Stadium skizon tua <i>P. falciparum</i> pada sediaan apusan darah tipis.....	13
Gambar 2.8 Stadium skizon matang <i>P. falciparum</i> pada sediaan apusan darah tipis.....	14
Gambar 2.9 Stadium mikrogametosit muda <i>P. falciparum</i> pada sediaan apusan darah tipis.....	14
Gambar 2.10 Stadium makrogametosit muda <i>P. falciparum</i> pada sediaan apusan darah tipis.....	15
Gambar 2.11 Interaksi Antara Host dan Parasit di Kulit.....	16
Gambar 2.12 Invasi Parasit pada Hepatosit.....	18
Gambar 2.13 Interaksi Antara Host dan Parasit di Hepar.....	19
Gambar 2.14 Invasi Parasit pada Eritrosit.....	20
Gambar 2.15 Infeksi Parasit pada Eritrosit.....	23
Gambar 2.16 Efek <i>Direct</i> dan <i>Indirect</i> Parasit Terhadap Anemia pada Malaria..	28
Gambar 2.17 Pengobatan Terhadap Infeksi <i>P. falciparum</i> Menurut Berat Badan.....	32
Gambar 2.18 Pengobatan Terhadap Infeksi <i>P. vivax</i> Menurut Berat Badan.....	32
Gambar 2.19 Pengobatan Terhadap Infeksi Campuran <i>P. falciparum</i> dengan <i>P. vivax/P. ovale</i> Menurut Berat Badan.....	33
Gambar 2.20 Tanaman Pare.....	34
Gambar 2.21 Bagan Kerangka Teori.....	40
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep.....	44
Gambar 4.1. Teknik dan lokasi teknik infeksi <i>Plasmodium berghei</i> pada hewan coba mencit.....	52
Gambar 4.2. Diagram Alur Penelitian.....	57
Gambar 5.1 Grafik Rata-Rata Berat Badan Mencit.....	65
Gambar 5.2 Grafik Rata-Rata Berat Badan Mencit Setiap Hari.....	65
Gambar 5.3 Rata-Rata Derajat Parasitemia Mencit.....	66
Gambar 5.4 Eritrosit Terinfeksi <i>Plasmodium berghei</i> .....	67
Gambar 5.5 Ekspresi TNF- $\alpha$ hati mencit menggunakan pewarnaan IHK.....	68
Gambar 5.6 Grafik Rata-Rata dan Simpangan Baku Ekspresi TNF- $\alpha$ dengan berbagai perlakuan.....	70

Gambar 5.7 Grafik Rata-rata dan Simpangan Baku Kadar Hemoglobin Mencit dengan berbagai perlakuan.....	72
--	----

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Ethical Clearance KEPK FKIK UIN Malang.....
Lampiran 2 Hasil Pengukuran Berat Badan Mencit.....
Lampiran 3 Hasil Pemeriksaan Hemoglobin Mencit.....
Lampiran 4 Hasil Perhitungan TNF- $\alpha$ .....
Lampiran 5 Uji Normalitas.....
Lampiran 6 Uji Homogenitas Ragam.....
Lampiran 7. Uji Deskriptif.....
Lampiran 8. Uji ANOVA.....
Lampiran 9. Uji Kruskal Wallis.....
Lampiran 10. Uji Korelasi Spearman.....
Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian.....

## ABSTRAK

### **PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK BUAH PARE (*Momorcica charantia* L.) TERHADAP PENURUNAN EKSPRESI TNF- $\alpha$ DAN ANGKA KEJADIAN ANEMIA PADA MENCIT BALB/C YANG DIINFEKSI *Plasmodium berghei***

Malaria adalah salah satu masalah kesehatan penduduk dunia terutama pada daerah tropis. Indonesia menempati urutan kedua kasus malaria terbanyak di Asia Tenggara. Manifestasi klinis spesifik pada infeksi malaria terdiri dari demam paroksismal, anemia, dan splenomegali. Infeksi malaria dapat menyebabkan terekspresinya sitokin pro-inflamasi yaitu TNF- $\alpha$ . Ekspresi TNF- $\alpha$  yang berlebihan dapat menyebabkan keparahan penyakit malaria. Selain itu, TNF- $\alpha$  berkontribusi pada kejadian anemia. Buah pare mengandung senyawa alkaloid, triterpenoid, dan flavonoid yang dapat bekerja sebagai anti malaria. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh ekstrak buah pare terhadap penurunan ekspresi TNF- $\alpha$  dan angka kejadian anemia pada mencit balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. Sebanyak 24 mencit jantan dibagi menjadi 4 kelompok yaitu kelompok kontrol yang diinfeksi *Plasmodium berghei* tanpa diberikan terapi dan kelompok perlakuan yang diinfeksi *Plasmodium berghei* dan diberikan terapi selama lima hari dengan dosis 0,25; 0,5; 1 mg/grBB/hari. Pada hari ke-6 mencit dibedah kemudian dilakukan pengukuran ekspresi TNF- $\alpha$  dengan metode imunohistokimia dan anemia menggunakan metode cyanmethemoglobin. Ekspresi TNF- $\alpha$  dan angka kejadian anemia dianalisa menggunakan uji ANOVA dan *Kruskal Wallis*. Selanjutnya hubungan TNF- $\alpha$  dan angka kejadian anemia dianalisa menggunakan korelasi Spearman. Hasil penelitian menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan pemberian ekstrak buah pare terhadap penurunan ekspresi TNF- $\alpha$  dengan nilai signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ). Tidak didapatkan perbedaan signifikan pemberian ekstrak buah pare terhadap angka kejadian anemia dengan nilai signifikansi 0,513 ( $p > 0,05$ ). Uji korelasi Spearman didapatkan nilai signifikansi 0,970 ( $p > 0,05$ ). Dapat disimpulkan bahwa ekstrak buah pare dapat menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  secara signifikan namun tidak berpengaruh terhadap angka kejadian anemia secara signifikan.

**Kata kunci:** Malaria, ekspresi TNF- $\alpha$ , anemia, ekstrak buah pare (*Momordica charantia* L.)

## ABSTRACT

### **THE EFFECT OF PARE (*Momordica charantia* L.) FRUIT EXTRACT ON REDUCING TNF- $\alpha$ EXPRESSION AND THE INCIDENCE OF ANEMIA IN BALB/C MOUSE INFECTED WITH *Plasmodium berghei***

Malaria is one of the world's health problems. Indonesia is the country with the second highest number of malaria cases in Southeast Asia. Specific clinical manifestations of malaria infection consist of paroxysmal fever, anemia, and splenomegaly. Malaria infection can cause the expression of TNF- $\alpha$  the pro-inflammatory cytokines. Overexpression of TNF- $\alpha$  can cause the severity of malaria. In addition, TNF- $\alpha$  contributes to the incidence of anemia. Pare contains alkaloids, triterpenoids, and flavonoids that can acts as antimalaria. The purpose of this study is to determine the effect of pare fruit extract on reducing TNF- $\alpha$  expression and the incidence of anemia in balb/c mice infected with *Plasmodium berghei*. A total of 24 male mice were divided into 4 groups, namely the control group which was infected without being given therapy, and the treatment group which was infected and given therapy for 5 days with a dose of 0,25; 0,5; 1 mg/grBB/day. On the 6th day, the mice were dissected and then measured TNF- $\alpha$  expression by immunohistochemistry anemia using cyanmethemoglobin. TNF- $\alpha$  expression and the incidence of anemia were analyzed using ANOVA and *Kruskal Wallis* test. The relationship between TNF- $\alpha$  and anemia was analyzed using the Spearman correlation. The results showed a significant difference in pare fruit extract to the decrease on TNF- $\alpha$  expression with a significant value of 0,000 ( $P < 0,05$ ). There was no significance difference to the incidence of anemia with a significance value of 0,513 ( $p > 0,05$ ). Spearman correlation test got a significance value of 0,970 ( $p > 0,05$ ). It can be said that pare fruit extract can significantly reduce TNF- $\alpha$  expression but does not significantly affect the incidence of anemia.

**Keywords:** Malaria, TNF- $\alpha$  expression, anemia, pare fruit extract (*Momordica charantia* L.)

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang Masalah**

Malaria merupakan masalah kesehatan penduduk dunia dan mayoritas berada di daerah tropis dan subtropis. Malaria pada manusia terutama disebabkan oleh lima spesies parasit protozoa yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium malariae*, dan *Plasmodium knowlesi* (Zhou *et al.*, 2020). Berdasarkan WHO *World Malaria Report* (2018), secara global didapatkan sekitar 219 juta kasus malaria dan 435 ribu kematian akibat malaria. Meskipun diperkirakan terjadi penurunan kasus malaria pada tahun 2017 dibandingkan pada tahun 2010, data untuk periode 2015-2017 menyoroti bahwa tidak terdapat kemajuan yang signifikan dalam pengurangan kasus malaria secara global. Kasus malaria terbanyak menurut survei dari WHO adalah Wilayah Afrika, disusul oleh Wilayah Asia Tenggara, dan Mediterania Timur.

Pada wilayah Asia Selatan dan Asia Tenggara terdapat 11 negara yang termasuk wilayah endemis malaria. Tiga negara dengan kasus terbanyak adalah India (58%), disusul oleh Indonesia (20%), lalu Myanmar (16%) (Kumar *et al.*, 2012). *Annual Parasite Incidence* (API) di Indonesia di tahun 2015 menunjukkan angka 0,85. Walaupun Tren API mengalami penurunan sejak tahun 2011 namun beberapa daerah terutama Indonesia bagian timur masih memiliki angka API yang sangat tinggi melebihi API nasional (Kemenkes, 2016).

Ketika terjadi infeksi malaria, maka *Plasmodium* akan memproduksi produk parasit bioaktif yang menaikkan (upregulasi) atau menurunkan (downregulasi) proses patogen yang sebagian besar melalui efeknya pada sistem imun innate.



Respon imun terhadap serangan infeksi terutama dipengaruhi oleh interaksi dari *Pathogen-Associated Molecular Patterns* (PAMPs) dengan reseptor yang diekspresikan oleh sel host. Banyak penelitian yang mengaitkan *glycosylphosphatidylinositol* (GPI) dari *P. falciparum* sebagai PAMP malaria dan sebagai toksin. GPI dapat menginduksi produksi sitokin oleh sel T helper 1 (Th1) atau sel T helper-2 (Th2) yang terlibat dalam patogenesis malaria (Schofield and Grau, 2005). Th1 menghasilkan sitokin pro-inflamasi yang dapat mengaktifasi imunitas non spesifik dan imunitas seluler. Sitokin pro inflamasi yang dihasilkan antara lain Tumor Necrosis Factor Alpha ( TNF- $\alpha$ ), Tumor Necrosis Factor Beta (TNF- $\beta$ ), Interferon Gamma (IFN- $\gamma$ ), Interleukin-1 ( IL-1 ), Interleukin 6 (IL-6), Interleukin 8 (IL-8), dan Interleukin 12 (IL-12). Sementara Th2 berfungsi mengaktifasi imunitas humoral dengan menghasilkan sitokin anti inflamasi seperti Interleukin-4 ( IL-4 ) dan Interleukin-10 ( IL-10 ) (Wahyuniati and Maulana, 2015).

TNF- $\alpha$  adalah sitokin pro-inflamasi yang pada prinsipnya diproduksi oleh sel imun yang teraktivasi seperti makrofag, sel T CD4+, sel B, dan sel mast (Gimenez et al., 2003a). TNF- $\alpha$  memiliki peran ganda dalam patogenesis malaria (Leão et al., 2020). Pada kasus malaria cerebral fase awal, peningkatan TNF- $\alpha$  berkaitan dengan pengurangan dari derajat parasitemia. Namun, produksi TNF- $\alpha$  yang berlebihan pada fase akhir dikaitkan dengan keparahan penyakit malaria akibat beratnya kerusakan jaringan yang terjadi (Irawati, 2014). Peran ganda ini menunjukkan bahwa regulasi dan waktu produksi sitokin pro-inflamasi sangat penting untuk pengendalian infeksi (Leão et al., 2020).

Malaria merupakan penyebab utama anemia di daerah tropis. Patogenesis terjadinya anemia pada malaria adalah multifaktorial (Nicholas J. White, 2018). Diantara penyebabnya adalah penghancuran eritrosit yang terinfeksi parasit malaria dan pemendekan umur eritrosit yang tidak terinfeksi, sekuestrasi eritrosit di limpa, diseritropoiesis dan penekanan pada sumsum tulang belakang (Perkins *et al.*, 2011; Kinra and Dutta, 2013). Salah satu penyebab penting dari berkurangnya eritropoiesis adalah adanya ketidakseimbangan dari mediator-mediator inflamasi. Overproduksi dari IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$  yang meningkatkan produksi NO berkontribusi pada kejadian anemia melalui penekanan dari tulang belakang, diseritropoiesis, dan eritrofagositosis (Perkins *et al.*, 2011). Diseritropoiesis pada malaria diduga terkait dengan produksi dari mediator-mediator intrameduler (sitokin pro-inflamasi, oksida nitrat, lipoperoksida, bioaktif aldehyd) yang menekan eritropoiesis dan diduga menyebabkan apoptosis dari prekursor eritrosit (Nicholas J. White, 2018).

Obat anti malaria adalah kunci untuk pengendalian dan pemberantasan dari malaria (Cui *et al.*, 2015). Namun, saat ini resistensi terhadap obat antimalaria yang biasa digunakan, seperti klorokuin, telah dikonfirmasi terjadi pada dua spesies parasit malaria yaitu *Plasmodium falciparum* dan *Plasmodium vivax*. Perkembangan resistensi obat merupakan salah satu ancaman terbesar dalam pengendalian malaria dan dapat mengakibatkan peningkatan morbiditas dan mortalitas akibat malaria (CDC, 2018). Di Indonesia, resistensi *P. falciparum* terhadap klorokuin pertama kali terjadi di Kalimantan Timur pada tahun 1974 dan pada tahun 1992 resistensi telah dilaporkan terjadi di seluruh wilayah Indonesia (Azlin, 2016).

Fenomena perkembangan resistensi obat antimalaria menjadikan penemuan obat antimalaria baru penting untuk dilakukan, sesuai dengan hadist di bawah ini

إِنَّ اللَّهَ لَمْ يَنْزِلْ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً، عَلِمَهُ مَنْ عَلِمَهُ وَجَهَلَهُ مَنْ جَهَلَهُ

(رواه احمد)

Artinya : *“Sesungguhnya Allah tidaklah menurunkan sebuah penyakit melainkan menurunkan pula obatnya. Obat itu diketahui oleh orang yang bisa mengetahuinya dan tidak diketahui oleh orang yang tidak bisa mengetahuinya.”* (HR. Ahmad)

Hadist tersebut menyatakan bahwasanya Allah pasti menurunkan penyakit beserta penawarnya (obat) hanya saja perihal apakah manusia sudah menemukan atau belum menemukan obat dari penyakit itu.

Pare (*Momordica charantia L.*) adalah tanaman khas Indonesia yang mengandung banyak nutrien di dalamnya. Pare kaya akan kandungan fitokimia seperti senyawa bioaktif, vitamin, mineral, dan antioksidan yang memberikan kontribusi pada kemampuannya dalam menjadi obat berbagai macam penyakit (Akanji *et al.*, 2016). Pare adalah tanaman merambat dari keluarga *Cucurbitacea* dan merupakan salah satu tanaman paling pahit (Temitope, 2014). Pare telah digunakan dalam berbagai sistem pengobatan tradisional Asia sejak lama dan bermanfaat untuk mencegah dan mengobati berbagai penyakit. Buah pare digunakan untuk asma, konstipasi, diabetes, batuk, malaria, asam urat, cacingan, kusta, maag, dan luka (Ahmad *et al.*, 2016). Di Asia, pare dianggap efektif untuk manajemen dan pencegahan malaria. Di Kolombia dan Panama, digunakan teh

dari daun pare untuk pengobatan malaria. Telah dikonfirmasi oleh penelitian laboratorium bahwasanya spesies yang mana dikaitkan dengan pare, memiliki aktivitas antimalaria (Saeed *et al.*, 2018). Pare juga digunakan secara tradisional sebagai antimalaria di Jawa dan Sumatra (M Taek *et al.*, 2018). Penelitian oleh Hermansyah dan Susilawati tahun 2014, menguji aktivitas antiplasmodium ekstrak buah pare pada *P.falciparum* strain 3D7 didapatkan hasil  $IC_{50} = 0,39 \mu\text{g/mL}$ . Sedangkan menurut Fidock *et al* (2004) bahwa obat yang perspektif untuk antimalaria adalah yang memiliki nilai  $IC_{50} < 1-5 \mu\text{M}$  pada uji secara in vitro (Susilawati and Hermansyah, 2014).

Aktivitas antimalaria pada pare dapat terkait dengan efek sinergis dan antagonis dari metabolit aktif kimiawi yang ada di dalam ekstrak seperti alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, kuinon, steroid, triterpenoid dan kumarin (Mozaniel *et al.*, 2018). Mekanisme kerja alkaloid pada pare belum diketahui secara pasti namun diduga mirip dengan salah satu obat antimalaria yang bersifat skizontisida darah yaitu kina (Rajendran, 2011). Kina bertindak sebagai skizontisida darah dan gametosida lemah dalam melawan infeksi *P. vivax* dan *P. malariae* (Amutha and Devi, 2019). Mekanisme kerja triterpenoid sebagai antimalaria belum diketahui pasti namun diperkirakan terlibat dalam kerusakan membran sel oleh senyawa lipofilik (Rajendran, 2011). Penghambatan parasit oleh bioflavonoid terjadi melalui mekanisme aksi dengan dua target utama yaitu pada membran yang dibentuk parasit saat stadium eritrositik dengan penghambatan transport nutrisi yang esensial bagi parasit. Kedua pada vakuola makanan parasit malaria melalui penghambatan proses degradasi hemoglobin dan detoksifikasi heme (Widyawaruyanti and Zaini, 2011).

*P.berghei* memiliki siklus hidup serta morfologi yang mirip parasit malaria pada manusia yaitu perpaduan antara *P.falciparum* dengan *P.vivax* (Marhamah and Husna, 2019). Penelitian malaria banyak menggunakan *P.berghei* sebagai pengganti *P.falciparum*. Hal ini dikarenakan ukuran genom *P.berghei* paling mirip dengan yang dimiliki *P.falciparum*. Selain itu, terdapat sifat biokimiawi yang mirip antara keduanya (Andika, 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Tan *et al* tahun 1996 atas dasar immunological cross-reactivity, mengidentifikasi bahwa antigen 43-kDa dari *P.berghei* homolog dengan antigen exp-1 dari *P.falciparum*. Antigen *P.berghei* dikenali oleh antibodi yang ditujukan untuk melawan epitop pada C-terminus dari exp-1 *P.falciparum* (Tan *et al.*, 1996).

Berdasarkan pada uraian diatas maka peneliti memiliki ketertarikan untuk melakukan penelitian mengenai Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia L.*) Terhadap Penurunan Ekspresi TNF- $\alpha$  dan Angka Kejadian Anemia Pada Mencit Balb/c yang di Infeksi *Plasmodium berghei*. Dosis yang digunakan sebesar 0,25 mg/grBB, 0,5 mg/grBB, dan 1 mg/grBB beracuan pada penelitian yang dilakukan oleh (Mulyastuti *et al.*, 2004) mengenai Efek Kombinasi Klorokuin dan *N-Acetyl Cysteine* Terhadap Jumlah Trombosit Mencit Galur Balb/c Yang Diinfeksi *Plasmodium berghei*.

## **1.2 Rumusan Masalah**

### **1.2.1 Rumusan Masalah Umum**

Apakah pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) dapat menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan Angka Kejadian Anemia pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*?

### **1.2.2 Rumusan Masalah Khusus**

1. Apakah pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) dapat menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*?
2. Apakah pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) dapat menurunkan angka kejadian anemia pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*?

### **1.3 Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1 Tujuan umum**

Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) terhadap penurunan ekspresi TNF- $\alpha$  dan angka kejadian anemia pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

#### **1.3.2 Tujuan Khusus**

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) terhadap penurunan ekspresi TNF- $\alpha$  pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) terhadap penurunan angka kejadian anemia pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

### **1.4 Manfaat Penelitian**

#### **1.4.1 Manfaat Teoritis**

Penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk menambah dan mengembangkan pengetahuan mengenai pengaruh pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L.*) terhadap penurunan ekspresi TNF- $\alpha$  dan angka kejadian anemia pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

#### 1.4.2 Manfaat Praktis

##### 1. Lembaga

Diharapkan menjadi bahan pembelajaran dan sumber literatur berkenaan dengan penyakit malaria bagi mahasiswa dan tenaga pendidik.

##### 2. Masyarakat

Dapat digunakan untuk meningkatkan wawasan dan menjadi dasar dalam pengembangan obat malaria baru sebagai alternatif terapi malaria.

##### 3. Peneliti Selanjutnya

Hasil penelitian ini dapat dijadikan data awal atau data pelengkap dalam penelitian sejenis.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Definisi dan Epidemiologi Malaria**

Malaria ialah salah satu penyakit yang disebabkan oleh infeksi parasit *Plasmodium* dan merupakan penyakit yang memiliki patogenesis yang kompleks (Wahyuniati and Maulana, 2015). Vektor dari penyakit malaria adalah nyamuk *Anopheles* betina (World Health Organization and Global Malaria Programme, 2019). Malaria merupakan masalah kesehatan penduduk dunia dan mayoritas berada di daerah tropis dan subtropis (Zhou *et al.*, 2020).

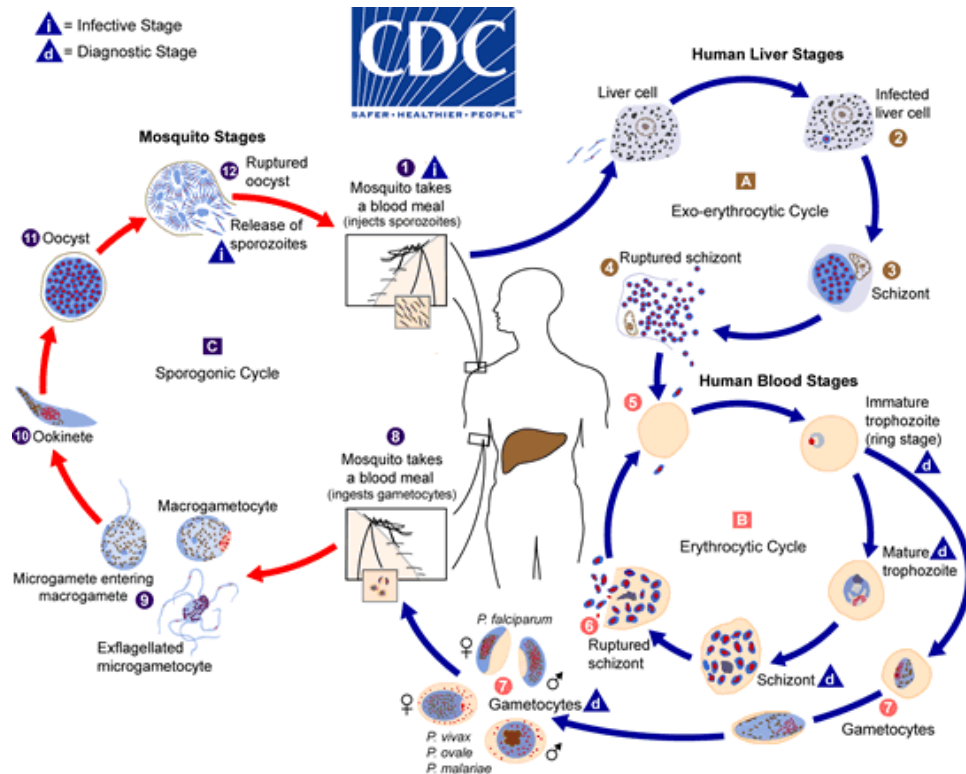
Secara global didapatkan sekitar 219 juta kasus malaria dan 435 ribu kematian akibat malaria (WHO, 2018). Indonesia menempati urutan kedua kasus malaria terbanyak pada wilayah Asia Selatan dan Asia Tenggara setelah India (Kumar *et al.*, 2012). *Annual Parasite Incidence* (API) adalah indikator untuk menentukan morbiditas malaria pada suatu wilayah. API di Indonesia pada tahun 2015 adalah 0,85. Walaupun Tren API mengalami penurunan sejak tahun 2011 namun beberapa daerah terutama Indonesia bagian timur masih memiliki angka API yang sangat tinggi melebihi API nasional. Upaya pemberantasan malaria termasuk dalam salah satu komitmen global yang tertuang dalam *Millenium Developmental Goals* (MDGs) dan dilanjutkan dalam *Sustainable Development Goals* (SDGs) yang bertujuan spesifik yaitu untuk mengakhiri epidemi malaria pada tahun 2030 (Kemenkes, 2016).

#### **2.2 Etiologi Malaria**



Terdapat empat spesies *Plasmodium* penyebab malaria yang kerap menginfeksi manusia yaitu *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium ovale*, dan *Plasmodium malariae*. Spesies kelima yaitu *Plasmodium knowlesi* (spesies *Plasmodium* yang terutama menginfeksi primata non-manusia) kini dilaporkan semakin banyak menginfeksi manusia yang mendiami kawasan hutan. *P. falciparum* dan *P. vivax* merupakan spesies yang paling umum (World Health Organization and Global Malaria Programme, 2019). *Plasmodium falciparum*, di antara spesies protozoa dari genus *Plasmodium*, merupakan spesies paling berbahaya dan penyebab paling parah penyakit malaria (Akanji *et al.*, 2016).

*Plasmodium* memiliki siklus hidup yang kompleks yaitu siklus seksual (sporogoni) yang terjadi dalam tubuh nyamuk *Anopheles* sebagai vektor malaria dan siklus aseksual (skizogoni) dalam hepatosit (tahap pre-eritrositik) dan eritrosit (darah atau tahap eritrositik) yang terjadi pada tubuh manusia (Hafalla *et al.*, 2011; Muti'ah, 2013).



**Gambar 2.1 Siklus Hidup *Plasmodium*** (Centers for Disease Control and Prevention)

Menurut (Sardjono dan Loeki, 2011), siklus aseksual dan siklus aseksual di bagi menjadi beberapa tahap yaitu :

a. Siklus aseksual (skizogoni)

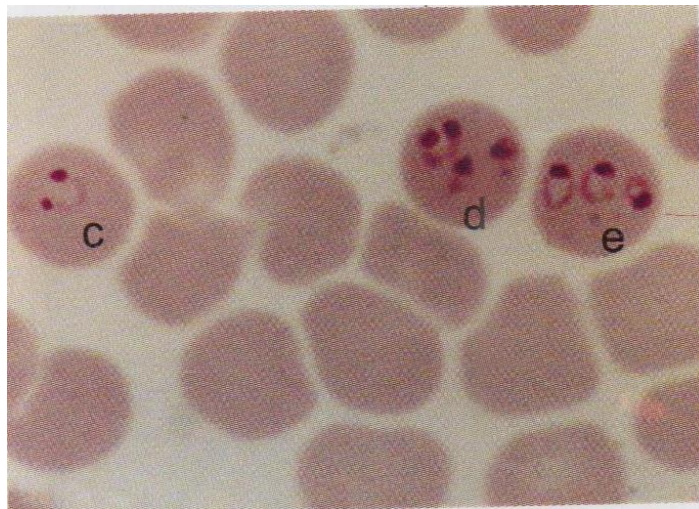
1. Siklus skizogoni dimulai ketika nyamuk *Anopheles* betina yang telah terinfeksi oleh *Plasmodium* menggigit manusia sehingga menyebabkan masuknya sporozoit ke dalam peredaran darah manusia.
2. Sporozoit-sporozoit tersebut lalu menginfeksi sel hepatosit. Dibutuhkan sekitar 20 menit bagi sporozit untuk menginfeksi sel hepatosit.
3. Sporozoit yang berhasil masuk dan menginfeksi sel hepatosit kemudian matur dan berubah menjadi skizon. Tahap ini disebut

sebagai tahap pre-eritrositik yang memakan waktu kurang lebih selama 2 minggu terhitung sejak awal gigitan nyamuk *Anopheles*.

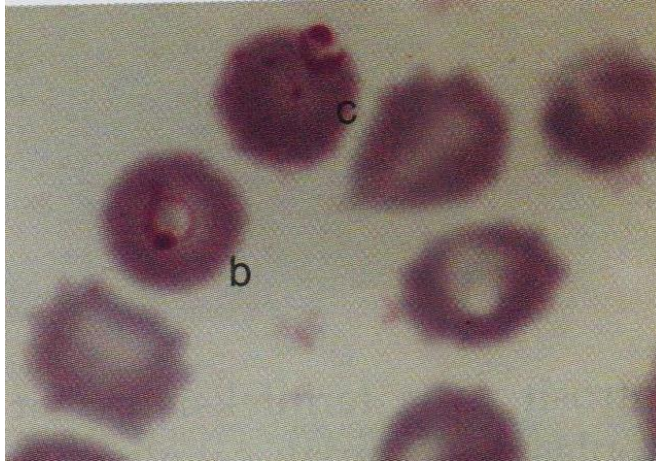
4. Skizon hati yang telah matur akan pecah dan melepaskan merozoit yang berjumlah hingga ribuan. Terjadi hal khusus pada infeksi *P.vivax* dan *P.ovale* yaitu sebagian sporozoit di dalam sel hepatosit tidak mengalami pembelahan/berada pada stadium istirahat dan disebut sebagai hipnozoit. Hipnozoit dapat bertahan di dalam hepatosit dalam waktu yang lama sehingga adanya stadium ini memungkinkan terjadinya relaps pada malaria.
  5. Selanjutnya merozoit masuk ke dalam aliran darah dan menginfeksi eritrosit sehingga disebut sebagai tahap eritrositik.
  6. Merozoit mengalami perubahan bentuk menjadi stadium vegetatif yang berinti satu disebut sebagai trophozoit (*ring stage*). Terjadi pembelahan dan perkembangan trophozoit di dalam eritrosit. Pembelahan trophozoit dimulai dari inti lalu diikuti pembelahan sitoplasmanya. Lalu trophozoit matur berubah menjadi skizon. Ketika skizon telah matang, maka eritrosit akan pecah dan mengeluarkan merozoit ke dalam aliran darah.
  7. Beberapa merozoit yang menginfeksi eritrosit, tidak melakukan pembelahan inti namun berdiferensiasi seksual menjadi bentuk mikrogametosit (gametosit jantan) dan makrogametosit (gametosit betina).
- b. Siklus seksual (sporogoni)

1. Siklus dimulai saat nyamuk *Anopheles* menggigit dan menghisap darah penderita malaria yang mengandung gametosit di dalam darahnya
2. Di dalam perut nyamuk *Anopheles* terjadi proses pembuahan antara mikrogamet dan makrogamet. Pembuahan menghasilkan zigot
3. Zigot berubah menjadi ookinet
4. Ookinet menembus dinding lambung (*midgut*) lalu berubah menjadi ookista
5. Ookista yang telah matang akan pecah dan puluhan ribu sporozoit akan keluar dan menuju ke dalam kelenjar saliva nyamuk yang dapat dengan mudah ditularkan ketika nyamuk menggigit tubuh manusia lain

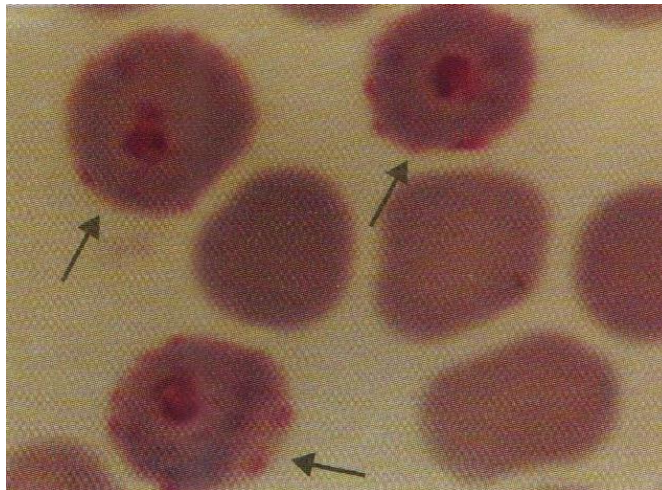
Morfologi dari berbagai stadium parasit *Plasmodium* dapat diamati pada apusan darah dibawah mikroskop cahaya. Berikut adalah gambaran yang dapat dilihat dari mikroskop (Purnomo dan Ayda, 2011):



**Gambar 2.2 Stadium ring muda (*ring form*) *P. falciparum* pada sediaan apusan darah tipis (Purnomo dan Ayda, 2011)**



**Gambar 2.3 Stadium ring tua (*ring form*) *P. falciparum* pada sediaan apusan darah tipis (Purnomo dan Ayda, 2011)**

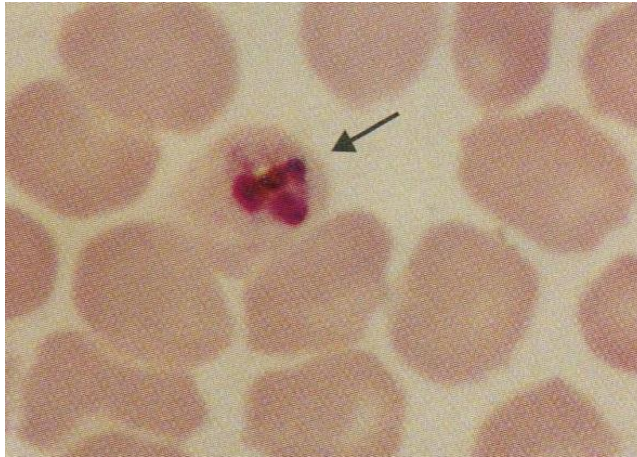


**Gambar 2.4 Stadium trophozoit muda *P. falciparum* pada sediaan apusan darah tipis (Purnomo dan Ayda, 2011)**

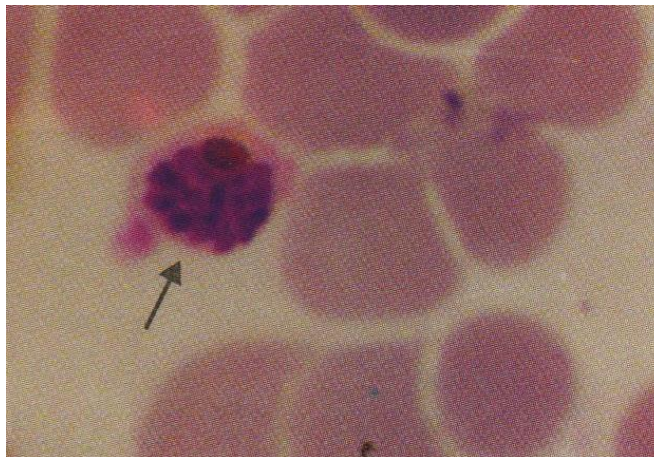




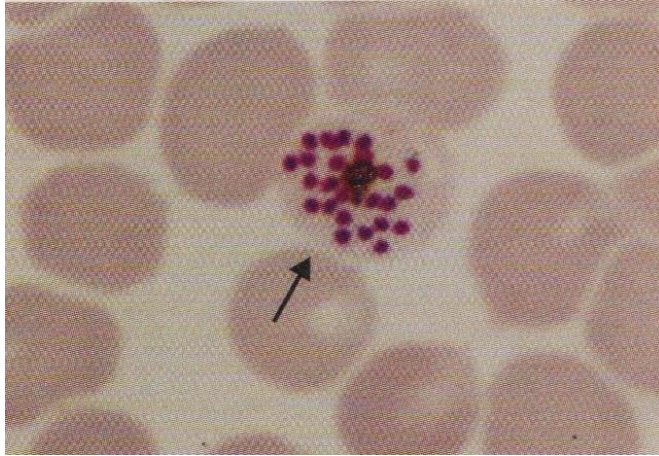
**Gambar 2.5 Stadium trophozoit tua *P. falciparum* pada sediaan apusan darah tipis (Purnomo dan Ayda, 2011)**



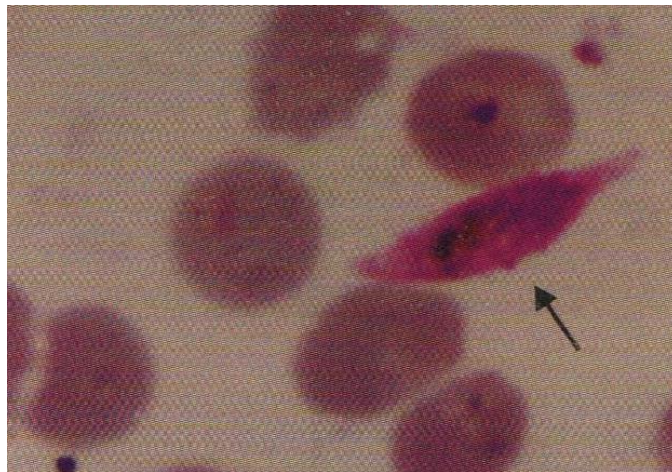
**Gambar 2.6 Stadium skizon muda *P. falciparum* pada sediaan apusan darah tipis (Purnomo dan Ayda, 2011)**



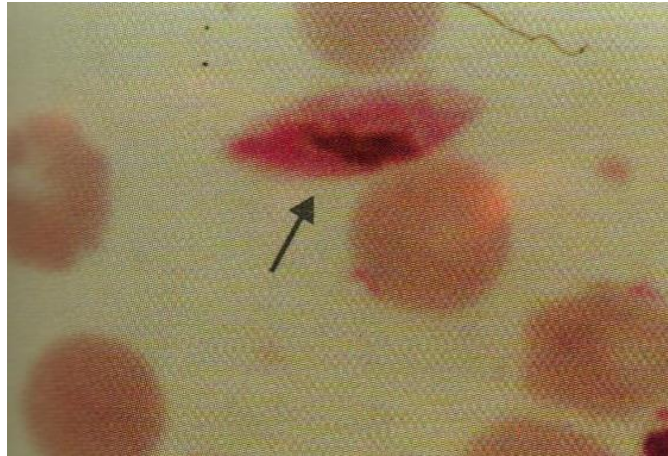
**Gambar 2.7 Stadium skizon tua *P. falciparum* pada sediaan apusan darah tipis (Purnomo dan Ayda, 2011)**



**Gambar 2.8 Stadium skizon matang *P. falciparum* pada sediaan apusan darah tipis (Purnomo dan Ayda, 2011)**



**Gambar 2.9 Stadium mikrogametosit muda *P. falciparum* pada sediaan apusan darah tipis (Purnomo dan Ayda, 2011)**



**Gambar 2.10 Stadium makrogametosit muda *P. falciparum* pada sediaan apusan darah tipis (Purnomo dan Ayda, 2011)**

**Tabel 2.1 Perbedaan Antar Jenis *Plasmodium* Penyebab Malaria (Sardjono dan Loeki, 2011)**

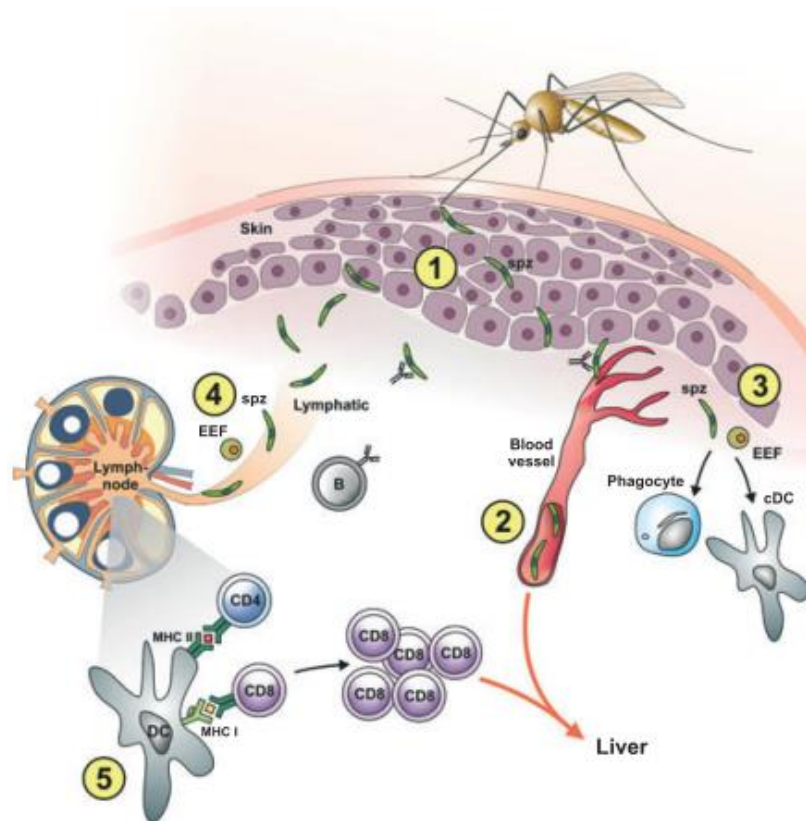
	<i>P.falciparum</i>	<i>P.vivax</i>	<i>P.ovale</i>	<i>P.malariae</i>
Siklus intrahepatik	5,5 hari	8 hari	9 hari	15 hari
Masa inkubasi	12 hari	13-17 hari	13-17 hari	28-30 hari
Siklus eritrositik	36-48 jam	48 jam	48-50 jam	72 jam
Sel-sel eritrosit yang diserang	Eritrosit muda (bisa menginfeksi sel semua umur)	Retikulosit	Retikulosit	Eritrosit matur
Kemungkinan relaps	Tidak	Iya	Iya	Tidak



## 2.3 Patofisiologi pada Infeksi Malaria

### 2.3.1 Stadium Preeritrositik Malaria

Infeksi malaria dimulai ketika seseorang digigit oleh nyamuk *Anopheles* betina yang terinfeksi *Plasmodium*, maka siklus hidup aseksual di dalam tubuh hospes sudah di mulai (Schofield and Grau, 2005). Interaksi antara host dan parasit di kulit hospes dapat di lihat pada Gambar 2.11.



**Gambar 2.11 Interaksi Antara Host dan Parasit di Kulit**

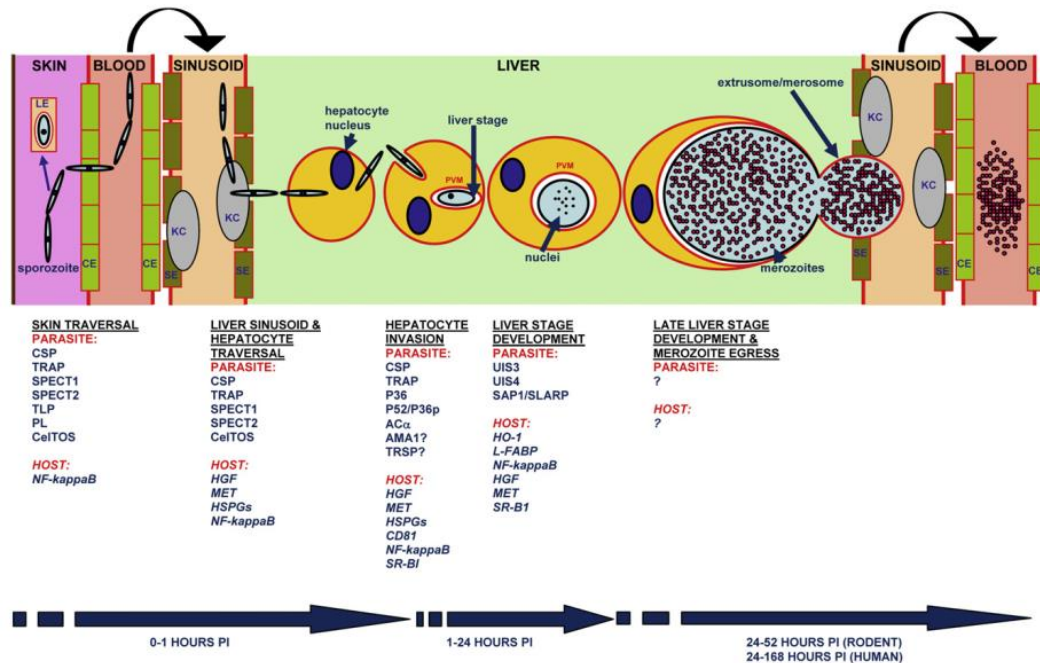
Parasit dalam bentuk sporozoit akan diinjeksikan oleh nyamuk kemudian masuk ke dermis. Migrasi sporozoit menuju hati terjadi dalam 15 menit pertama hingga beberapa jam setelah infeksi. Sporozoit bergerak melalui sel-sel dermis, memasuki kapiler darah dan dengan cepat didistribusikan ke hati melalui sirkulasi darah. Beberapa sporozoit tidak dapat bergerak dari kulit menuju sirkulasi darah dan akhirnya dieliminasi oleh fagosit. Sementara beberapa sporozoit dibawa oleh sistem limfatik menuju ke KGB untuk pengenalan antigen ke sel T dan aktivasi sel T. MHC kelas 1 bertugas mempresentasikan

antigen kepada sel CD8 (sel T sitotoksik) sementara MHC kelas 2 mempresentasikan antigen kepada sel CD4 (Hafalla *et al.*, 2011)

Transmigrasi seluler oleh sporozoit diperlukan untuk melewati barrier sinusoid hati. Parasit tidak dapat langsung menginvasi hepatosit karena hepatosit dipisahkan dari lumen sinusoid oleh lapisan *Liver Sinusoid Endothelial Cells* (LSECs) dan *Interspaced Kupffer Cells* (KCs) (Hafalla *et al.*, 2011; Vaughan *et al.*, 2008). Di dalam hati, sporozoit melewati barrier sinusoidal hati melalui sel Kupffer yang merupakan makrofag hati. Begitu berhasil berada di dalam parenkim hati, sporozoit tidak secara langsung menginvasi secara produktif melainkan akan melintasi beberapa hepatosit sebelum menyerang sel target dengan membentuk vakuola parasitoforus (PV) dimana parasit berdiferensiasi menjadi bentuk ekso-eritrositik (EEF). Membran dari PV terutama berasal dari sel inang namun terjadi remodelling secara cepat ketika terjadi penyisipan dari protein parasit. Setelah terjadi replikasi berulang kali, EEF matur melepaskan merozoit yang mengandung merozoit infeksius. Merozoit akhirnya akan mengalami ruptur dan melepaskan merozoit langsung ke dalam sirkulasi darah untuk menginfeksi eritrosit (Adah *et al.*, 2016; Hafalla *et al.*, 2011).

Siklus hidup parasit malaria terdiri dari tahap-tahap yang berbeda secara morfologik dan antigenik. Nyamuk *Anopheles* betina membutuhkan darah untuk memproduksi telur. Pada waktu menghisap darah, nyamuk yang mengandung *P.falciparum* akan menginjeksikan 5 hingga 20 sporozoit ke kulit atau langsung ke dalam aliran darah. Sporozoit kemudian bermigrasi ke hati dan memasuki hepatosit, lalu memulai aktifitas mitosis dan pembelahan nuklear untuk membentuk skizon. Sporozoit dan stadium hati inilah yang termasuk dalam fase

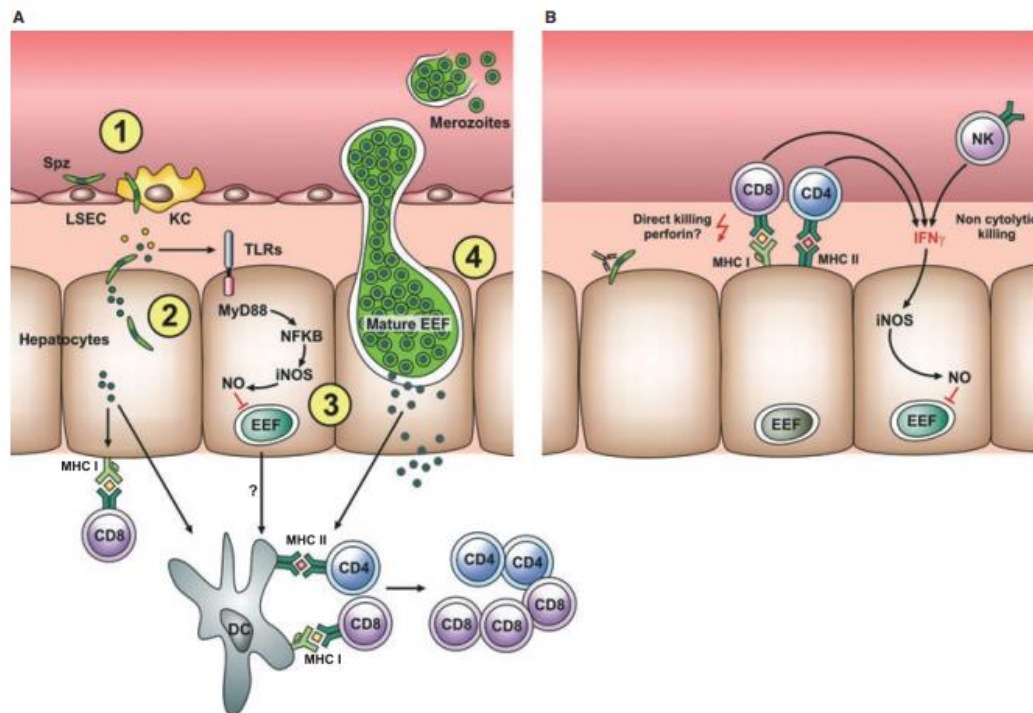
pre-eritrositik (Douradinha *et al.*, 2011). Invasi parasit pada hepatosit dapat di lihat pada Gambar 2.12.



**Gambar 2.12 Invasi Parasit pada Hepatosit**

Sporozoit infeksius diinjeksikan ke kulit kemudian memasuki aliran darah lewat sel endotel kapiler. Setelah berada pada sinusoid hati sporozoit meluncur di sepanjang endotel dan melintasi barrier sel sinusoid dengan melintasi sel kupferr. Sporozoit kemudian melintasi beberapa hepatosit sebelum menginvasi salah satunya dengan membentuk Vakuola Parasitophorus (PV). Replikasi dan pertumbuhan masif menyebabkan pembentukan *erythrocyte-infectious merozoites* yang memasuki sinusoid di dalam bentuk extrusome/merosome yang selanjutnya dilepaskan dalam aliran darah (Vaughan *et al.*, 2008).

Di hepar Skizon akan pecah 9-16 hari kemudian melepaskan 20.000-30.000 merozoit untuk setiap sporozoit ke dalam sirkulasi hepatik yang kemudian akan menyebar secara sistemik (Douradinha *et al.*, 2011). Interaksi antara host dan parasit di hepar dapat di lihat pada Gambar 2.13



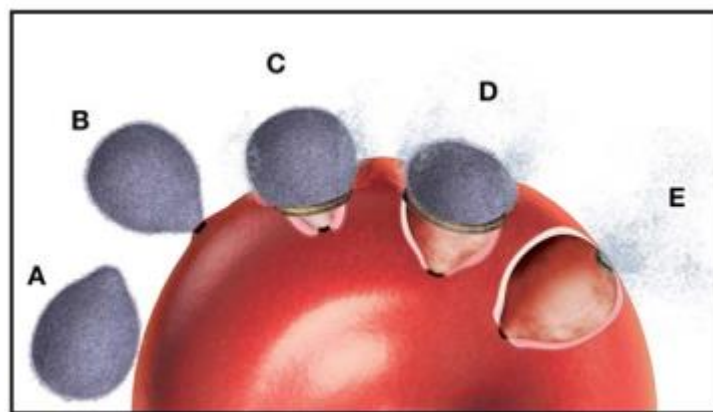
**Gambar 2.13 Interaksi Antara Host dan Parasit di Hepar**

(A) Infeksi *Plasmodium* di hati dan pengenalan oleh sistem kekebalan tubuh. Sporozoit melintasi barrier sinusoidal hati diperkirakan melalui sel Kupffer (1). Di parenkim hati, sporozoit aktif melintasi banyak hepatosit (2) sebelum menyerang sel target dengan membentuk vakuola parasitofor, di mana parasit berdiferensiasi menjadi bentuk exo-eritrositik (EEF) (3). Setelah replikasi berulang kali, EEF matur melepaskan merosom berpelindung membran yang mengandung merozoit infeksius (4). Merosom diangkut dan akhirnya pecah dan melepaskan merozoit langsung ke dalam darah yang menyerang eritrosit dan memulai tahap eritrositik dari infeksi malaria. Komponen sel hot yang dilepaskan selama migrasi sporozoit di hati memicu sinyal yang dimediasi MyD88 yang berpartisipasi dalam membatasi infeksi melalui aktivasi NF-κB dan produksi oksida nitrat (NO). Antigen parasit yang terpapar selama migrasi awal sporozoit, perkembangan EEF dan maturasi akhir parasit berkontribusi pada induksi respons CD4 + dan CD8 + tertentu. (B) Mekanisme imun efektor terhadap tahapan pra-eritrositik *Plasmodium*. Sel CD4 + dan CD8 + dapat mengeliminasi parasit intraseluler secara langsung melalui sitolisis atau secara tidak langsung melalui produksi IFN-γ yang mengaktifasi jalur NO (Hafalla *et al.*, 2011)

### 2.3.2 Stadium Eritrositik Malaria

Stadium eritrositik pada malaria bertanggung jawab pada timbulnya manifestasi klinis malaria (Hafalla *et al.*, 2011). Invasi *Plasmodium* ke dalam eritrosit menyebabkan perubahan ekstensif pada eritrosit hospes. Beberapa

perubahan yang terjadi antara lain adalah perubahan bentuk normal eritrosit, peningkatan rigiditas (kekakuan) membran eritrosit, dan peningkatan daya rekat terutama pada permukaan endotel. Proses invasi terjadi dalam waktu yang relatif singkat yaitu 30 hingga 90 detik (Mohandas and An, 2012). Setelah merozoit dilepaskan ke dalam aliran darah, merozoit akan melakukan invasi terhadap eritrosit. Terdapat beberapa tahap dari invasi merozoit pada eritrosit :



**Gambar 2.14 Invasi Parasit pada Eritrosit** (Cowman and Crabb, 2006)

Menurut Cowman and Crabb, 2006; Sardjono dan Loeki, 2011, tahapan invasi parasite pada eritrosit dapat di jelaskan sebagai berikut :

1. Tahap penempelan (*attachment*). Proses ini diperantarai oleh ligan berupa protein *Merozoite Surface Protein-1* (MSP-1) dan reseptor yaitu protein eritrosit band-3. Penempelan dapat terjadi di setiap titik pada permukaan eritrosit.
2. Tahap reorientasi. Protein yang terlibat dalam proses ini *adalah Apical Membrane Antigen-1* (AMA-1). Merozoit akan mengadakan reorientasi setelah menempel pada eritrosit sehingga ujung apikalnya akan berhubungan dengan membran dari eritrosit.

3. Pembentukan *Tight Junction*. Pembentukan melibatkan interaksi antara ligan dan reseptor berafinitas tinggi. *Tight junction* ini kemudian bergerak dari kutub apikal ke kutub posterior. Terjadi invaginasi eritrosit pada area junction yang mengakibatkan pembentukan vakuola parasitoforus (PV).
4. Merozoit masuk ke dalam eritrosit melalui celah PV. *Dense granula* yang merupakan organela apikal, berperan dalam proses ini. *Serine Protease* dari merozoit membantu proses dengan cara memecah sitoskeleton eritrosit.

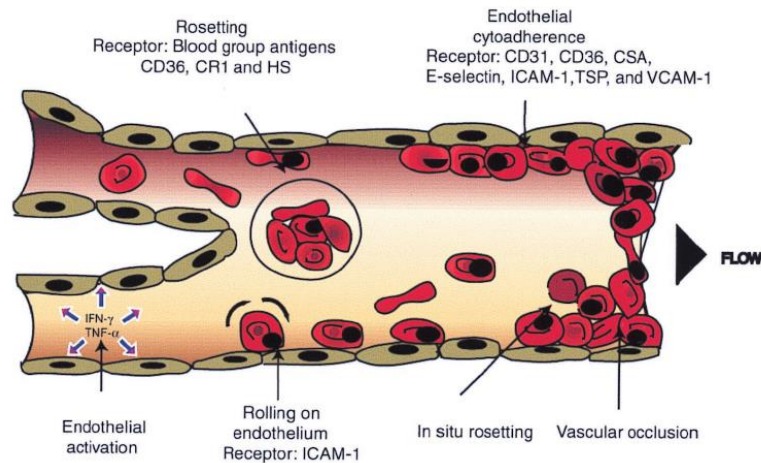
Ketika parasit telah berhasil masuk ke dalam eritrosit, eritrosit yang telah terinfeksi parasit disebut sebagai *Parasitized Red Blood Cells* (PRBC) akan mengalami perubahan struktur maupun biomolekulernya. Infeksi *P. falciparum* menyebabkan terjadinya hipoksia dikarenakan adanya obstruksi dari vaskuler organ dalam yang menjadi dasar timbulnya penyulit pada infeksi malaria. Mekanisme obstruksi berlangsung lewat rangkaian sitoadherens, rosetting, serta sekuestrasi (Sardjono dan Loeki, 2011).

Terjadi beberapa perubahan mekanik pada PRBC. Pertama, membran PRBC akan menjadi kurang fleksibel sehingga menyulitkannya untuk melalui mikrovaskuler (Chen *et al.*, 2000). Kemudian akan terjadi peristiwa *knobbing* atau pembentukan *knob* pada permukaan PRBC. Terdapat molekul-molekul adhesif pada permukaan *knob* yang akan memperantarai peristiwa sitoadherens atau melekatnya PRBC matur pada endotel vaskuler. Molekul adhesif ini disebut dengan *P. falciparum erythrocyte membrane protein-1* (PfEMP1). Selain kemampuan untuk menempel pada endotel vaskuler, PfEMP1 juga memiliki daya

untuk melekat dengan eritrosit yang terinfeksi parasit maupun tidak terinfeksi (Mawuntu, 2018).

Rosetting adalah kejadian perlekatan PRBC dengan beberapa eritrosit yang tidak terinfeksi (Chen *et al.*, 2000). Sepuluh eritrosit yang tidak terinfeksi menyelubungi PRBC sehingga akan menyebabkan penampakan seperti bunga (*rosette*). Proses rosetting dapat mengakibatkan obstruksi aliran darah lokal sehingga sitoadherens mudah terjadi (Mawuntu, 2018). Formasi rosette dapat dihilangkan dengan adanya antibodi spesifik terhadap *Plasmodium falciparum histidine rich protein-1* (PfHRP-1) (Sutjahjono and Ginanjar, 2001).

Peristiwa berikutnya adalah sekuestrasi. Pada keadaan normal seharusnya eritrosit terus beredar dalam sirkulasi darah namun adanya peristiwa sitoadherens menyebabkan eritrosit tidak beredar semestinya dan tertinggal di kapiler (Mawuntu, 2018). Adherens dengan beberapa reseptor melalui PfEMP1, parasit dapat terhindar dari aktivitas *clearance* limpa (Rasti *et al.*, 2004). Sekuestrasi terjadi di beberapa organ termasuk jantung, paru-paru, otak, hati, ginjal, jaringan subkutan, dan plasenta (Miller *et al.*, 2002). Disfungsi pada organ yang terkena dapat terjadi disebabkan adanya sitoadherens yang berlebihan pada vaskuler organ sehingga menyebabkan oklusi aliran darah. Oklusi tersebut dapat mengganggu distribusi oksigen (Chen *et al.*, 2000). Infeksi parasit pada eritrosit dapat di lihat pada Gambar 2.15.



**Gambar 2.15 Infeksi Parasit pada Eritrosit** (Chen *et al.*, 2000)

### 2.3.3 Respon Imun pada Infeksi Malaria

Ketika parasit yang bersekuestrasi telah matur, parasit akan memproduksi produk parasit bioaktif yang menaikkan (upregulasi) atau menurunkan (downregulasi) proses patogen yang sebagian besar melalui efeknya pada sistem imun innate. Respon imun terhadap serangan infeksi terutama dipengaruhi oleh interaksi dari *Pathogen-Associated Molecular Patterns* (PAMPs) dengan reseptor yang diekspresikan oleh sel host. Banyak penelitian yang mengaitkan *glycosylphosphatidylinositol* (GPI) dari *P. falciparum* sebagai PAMP malaria dan sebagai toksin. GPI dapat menginduksi produksi sitokin oleh sel T helper 1 (Th1) atau sel T helper-2 (Th2) yang terlibat dalam patogenesis malaria (Schofield and Grau, 2005).

Th1 menghasilkan sitokin pro-inflamasi sementara Th2 berfungsi menghasilkan sitokin anti-inflamasi (Wahyuniati and Maulana, 2015.). Sindrom kompleks dari malaria berhubungan dengan peningkatan kadar sitokin proinflamasi. Malaria parah terjadi terkait dengan kadar TNF- $\alpha$  yang tinggi,



peningkatan produksi sitokin pro-inflamasi lainnya (IFN- $\gamma$  dan IL-1 $\beta$ ), dan penurunan produksi sitokin anti-inflamasi terutama IL-10 dan TGF  $\beta$ . Sitokin yang dihasilkan Th1 dianggap memegang peran penting untuk pengendalian infeksi *Plasmodium* baik pada fase preeritrositik maupun eritrositik. Namun peningkatan produksi yang berlebih juga berkontribusi pada terjadinya kerusakan organ (Kinra and Dutta, 2013).

TNF- $\alpha$  adalah sitokin pro-inflamasi yang terlibat di dalam respon imunologi dari host (Cruz *et al.*, 2016). Pada prinsipnya TNF- $\alpha$  diproduksi oleh sel imun yang teraktivasi seperti makrofag, sel T CD4+, sel B, dan sel mast. TNF- $\alpha$  memainkan peran penting dalam reaksi inflamasi antara lain merangsang ekstrasvasasi neutrofil, limfosit, dan monosit serta meningkatkan adhesi sel-sel imun tersebut pada endotel, mempengaruhi respon imun dengan mengontrol aktivasi sel T yang menstimulasi ekspresi dari MHC I dan II pada permukaan sel, mendorong sintesis berbagai sitokin pro-inflamasi, dan menginduksi apoptosis berbagai jenis sel termasuk sel endotel (Gimenez *et al.*, 2003a).

TNF- $\alpha$  memiliki peran ganda dalam patogenesis malaria (Leão *et al.*, 2020). Meskipun TNF- $\alpha$  dan sitokin pro-inflamasi lainnya melindungi host dari parasit malaria, namun kadarnya yang berlebih berkaitan dengan kejadian malaria serebral & kematian (Perera *et al.*, 2013). Pada kasus malaria cerebral fase awal, peningkatan TNF- $\alpha$  berkaitan dengan pengurangan dari derajat parasitemia. Namun, produksi TNF- $\alpha$  yang berlebihan pada fase akhir dikaitkan dengan keparahan penyakit malaria akibat beratnya kerusakan jaringan yang terjadi (Irawati, 2014). Peran ganda ini menunjukkan bahwa regulasi dan waktu produksi

sitokin pro-inflamasi sangat penting untuk pengendalian infeksi (*Leão et al.*, 2020).

#### **2.3.4 *Plasmodium falciparum* Enoyl acyl Carrier Protein Reductase (PfENR)**

Saat ini, sebagian besar *P.falciparum* telah resisten terhadap obat antimalaria yang ada. Situasi ini disebabkan oleh terjadinya mutasi spontan pada struktur dan aktivitas target obat pada parasit malaria. Maka dari itu, pencarian obat antimalaria yang bekerja spesifik terhadap target pada parasit sangatlah penting. Salah satu target spesifik saat ini adalah PfENR (*Plasmodium falciparum* Enoyl acyl Carrier Protein Reductase) (*Suhartanto et al.*, 2014).

PfENR terletak pada apicoplast, organel yang merupakan tempat beberapa metabolisme *P.falciparum* salah satunya biosintesis asam lemak. Sebagai komponen utama dari membran sel, asam lemak sangat penting untuk kebutuhan energi. Pada *P.falciparum*, biosintesis asam lemak juga diperlukan untuk pertumbuhan sel, pembelahan sel, dan homeostasis (*Suhartanto et al.*, 2014). Penelitian terbaru menunjukkan bahwa parasit mensintesis asam lemak menggunakan asam lemak sintase tipe 2 (FAS-II) bukan asam lemak sintase tipe 1 (FAS-I). PfENR bertanggung jawab dalam proses terakhir biosintesis asam lemak pada parasit (*Lucumi*, 2005).

PfENR mengkatalisasi langkah terakhir dalam siklus elongasi biosintesis asam lemak. PfENR bekerja dengan cara mengurangi ikatan rangkap karbon enoil yang terikat secara kovalen ke protein pembawa asil. PfENR memiliki keunggulan unik dikarenakan tidak ada pada manusia, namun hanya pada

beberapa bakteri dan protozoa tertentu (Suhartanto *et al.*, 2014). Penelitian Surolia *dkk*, menunjukkan bahwa flavonoid dapat menghambat PfENR secara reversibel dengan EGCG yang menunjukkan aktivitas terbaik ( $K_i = 79 \pm 2,67$  nM) (Presson, 2018).

## 2.4 Manifestasi Klinis Malaria

Manifestasi klinis malaria tergantung pada status imunitas host sebelumnya (Bartoloni and Zammarchi, 2012). Manifestasi klinis disebabkan oleh stadium aseksual/eritrositik dari siklus hidup *Plasmodium* (Yazdani *et al.*, 2006). Menurut *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) dalam *Malaria Treatment Guidelines*, gejala malaria umumnya tidak spesifik. Gejala paling sering berupa demam, sakit kepala, malaise, gangguan gastrointestinal (mual, muntah, diare), keluhan neurologis (pusing, bingung, disorientasi, koma), sakit punggung, myalgia, menggigil, dan/atau batuk. Terdapat gejala utama spesifik malaria disebut sebagai *cardinal signs* yang terdiri dari demam paroksismal, anemia, dan splenomegali.

### 1. Demam paroksismal

Timbul beberapa hari setelah gigitan nyamuk *Anopheles*. Periode antara gigitan nyamuk hingga timbul demam disebut sebagai masa tunas intrinsik. Sitokin pro-inflamasi TNF- $\alpha$  berkontribusi terhadap timbulnya demam (Kinra and Dutta, 2013). Masing-masing spesies *Plasmodium* memiliki perbedaan lama masa tunas intrinsik. *P. falciparum* sekitar 12 hari, *P. ovale* dan *P. vivax* 13-17 hari, dan *P.*

*malariae* 28-30 hari (Sardjono dan Loeki, 2011). Pola demam klasik terjadi secara berurutan yaitu (Muti'ah, 2013):

1. Stadium dingin (*cold stage*)

Ditandai dengan perasaan kedinginan ekstrim yang terjadi tiba-tiba. Penderita menggigil hingga giginya bergemeletuk. Terjadi fenomena vasokonstriksi perifer, kulit dingin, kering, pucat, dan sianosis. Tahap awal ini biasanya berlangsung selama 10-30 menit dan sesekali hingga 90 menit. Suhu tubuh mengalami kenaikan bertahap ke puncak (biasanya antara 39°C - 41°C). Ketika telah mencapai puncak, menggigil berhenti dan stadium demam dimulai.

2. Stadium demam (*hot stage*)

Penderita akan merasakan panas, kulit kering, dan wajah tampak memerah. Suhu dapat meningkat lebih lanjut hingga mencapai hiperpireksia. Muntah sering terjadi pada stadium ini dan terkadang ditemukan diare, sakit kepala retroorbital, tenggorokan kering, rasa haus, juga dapat terjadi perubahan kesadaran. Lama stadium ini ialah kurang lebih 2-4 jam, seiring dengan irama siklus eritrositik. Pada infeksi *P. vivax* dan *P. ovale* demam timbul tiap hari ketiga (*tertian fever*) dikarenakan skizon matur tiap 48 jam. Pada *P. malariae* serangan terjadi tiap hari keempat (*quartan fever*) atau dengan interval 72 jam sementara *P. falciparum* memiliki interval 36-48 jam (*sub tertian fever*).

3. Stadium berkeringat (*sweating stage*)

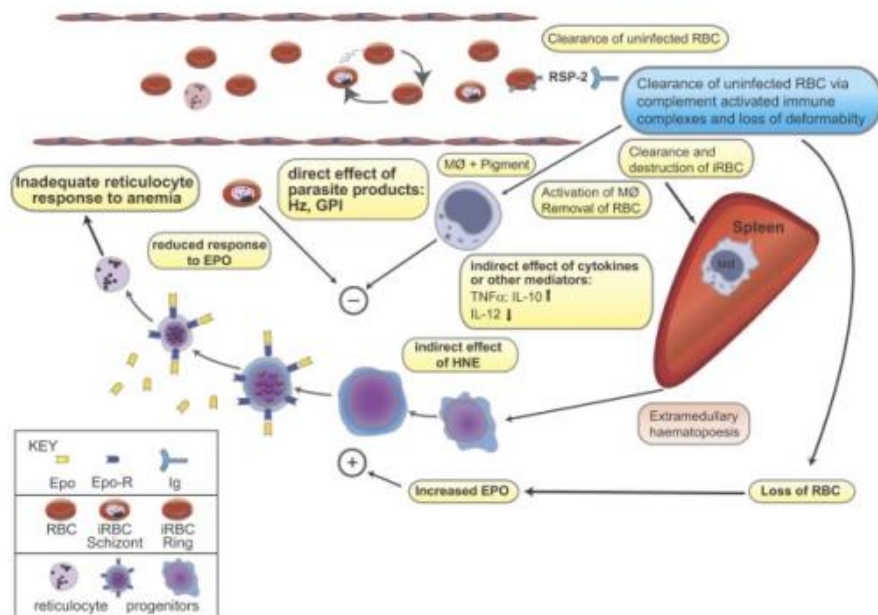
Terjadi setelah stadium demam berakhir dan ditandai dengan keringat berlebih yang tiba-tiba muncul. Suhu tubuh turun dengan cepat. Durasi stadium berkeringat sekitar 2-4 jam dan lebih sering dimulai pada sore atau malam hari.

## 2. Anemia

Anemia normokromik dan normositik adalah komplikasi yang sering terjadi pada malaria berat terutama pada anak kecil dan wanita hamil (Mohandas and An, 2012). Anemia pada infeksi malaria disebabkan berbagai macam patofisiologi yang tumpang tindih antara lain terjadinya kerusakan eritrosit yang telah terinfeksi oleh *Plasmodium* (PRBC) dan eritrosit yang tidak terinfeksi, diseritropoiesis, sekuestrasi eritrosit di limpa, supresi *bone marrow*, koinfeksi dengan bakteremia, HIV-1, dan infeksi cacing tambang (Perkins *et al.*, 2011). Patogenesis dari anemia berat selama infeksi malaria sangat kompleks dan melibatkan banyak proses yang berhubungan dengan kerusakan dan penurunan dari eritrosit. Selama infeksi *P.falciparum*, kadar retikulosit yang rendah menunjukkan penekanan sintesis eritropoietin. Peningkatan kerusakan eritrosit terjadi melalui rupturnya PRBC dan fagositosis PRBC maupun eritrosit yang tidak terinfeksi parasit oleh makrofag hiperaktif dalam sistem retikuloendotelial (Basir *et al.*, 2012).

Penyebab penting berkurangnya eritropoiesis pada anak-anak dengan anemia berat pada malaria (SMA) disebabkan oleh ketidakseimbangan mediator inflamasi. Respon imun dapat menjadi sebab suksesnya

kontrol terhadap parasitemia atau menimbulkan kerusakan pada sel host termasuk supresi eritropoiesis. Overproduksi dari IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$  yang meningkatkan produksi NO berkontribusi pada kejadian anemia melalui penekanan dari tulang belakang, diseritropoiesis, dan eritrofagositosis (Perkins *et al.*, 2011). Diseritropoiesis pada malaria diduga terkait dengan produksi dari mediator-mediator intrameduler (sitokin pro-inflamasi, oksida nitrat, lipoperoksida, bioaktif aldehyd) yang menekan eritropoiesis dan diduga menyebabkan apoptosis dari prekursor eritrosit (Nicholas J. White, 2018). Studi in vivo dan in vitro telah menunjukkan keterlibatan dari sitokin pro-inflamasi utamanya IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$  dalam penghambatan proliferasi dan diferensiasi sel progenitor eritroid (Clark *et al.*, 2006; Morceau *et al.*, 2009; Zivot *et al.*, 2018).



**Gambar 2.16 Efek *Direct* dan *Indirect* Parasit Terhadap Anemia pada Malaria**

Anemia pada malaria ditandai dengan kerusakan eritrosit yang terinfeksi (iRBC) serta pembersihan iRBC dan eritrosit tidak terinfeksi. Selama infeksi malaria komposisi protein membran mengalami perubahan sehingga berakibat kompleks imun sel darah merah, Ag, dan Imunoglobulin (ig) dibersihkan oleh makrofag dan limpa. Makrofag yang mengandung pigmen malaria dapat melepaskan sitokin inflamasi dan mediator aktif biologis lain seperti hidroksi-nonenal (HNE). Terdapat kemungkinan pigmen malaria atau produk parasit lainnya memiliki efek penghambatan langsung pada eritropoiesis. Inhibisi eritropoiesis dapat terjadi pada satu atau lebih tahap pertumbuhan dan diferensiasi dari progenitor hematopoietik. Efek langsung dan tidak langsung dapat menyebabkan supresi dari sumsum tulang belakang dan limpa yang mengakibatkan jumlah retikulosit tidak adekuat yang berakibat pada anemia. Infeksi pada manusia ditunjukkan oleh kotak biru, pada tikus oleh kotak merah muda, dan pada keduanya oleh kotak kuning (Lamikanra *et al.*, 2007)

### 3. Splenomegali

Hepatosplenomegali yang terjadi akibat paparan malaria kronis berhubungan dengan peningkatan sirkulasi mediator-mediator pro-inflamasi (Kinra and Dutta, 2013). Splenomegali pada malaria akut banyak terjadi pada minggu pertama dikarenakan fungsi retikuloendotelial yang meningkat. Ketika terjadi splenomegali didapatkan rasa tidak nyaman pada epigastrium, terkadang disertai jaundice dan gangguan faal hepar yang ditandai enzim SGOT dan SGPT yang mengalami peningkatan aktivitas (Sardjono dan Loeki, 2011).

## 2.5 Diagnosis Malaria

Gejala dari malaria sangatlah bervariasi dari gejala ringan hingga gejala berat yang dapat berakibat pada kematian. Berdasarkan Kemenkes 2017, diagnosis dari malaria ditegakkan melalui anamnesis, pemeriksaan fisik, serta pemeriksaan laboratorium.

### a. Anamnesis

1. Tanyakan mengenai keluhan yang dirasakan pasien seperti kejadian demam, menggigil, berkeringat yang mungkin disertai keluhan sakit kepala, mual, muntah, diare, dan nyeri otot
2. Riwayat terdahulu pernah menderita malaria dan riwayat konsumsi obat malaria
3. Penting ditanyakan mengenai riwayat bepergian atau tinggal di daerah endemis malaria

Catatan penting bahwa keluhan demam/riwayat demam dan riwayat bepergian ke daerah endemis harus selalu ditanyakan pada tiap penderita.

b. Pemeriksaan Fisik

1. Temperatur axilla  $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$
2. Konjungtiva atau telapak tangan tampak pucat
3. Sklera ikterus
4. Hepatosplenomegali

c. Pemeriksaan Laboratorium

Diagnosis pasti seseorang terinfeksi malaria dapat ditegakkan melalui pemeriksaan apus darah mikroskopis dan *Rapid Diagnostic Test*

1. Pemeriksaan dengan mikroskop

Pemeriksaan apusan darah tebal dan tipis untuk melihat dan memastikan:

- a. Parasit malaria pada apusan (ada atau tidak)
- b. Stadium serta spesies parasit *Plasmodium*
- c. Kepadatan parasit

2. *Rapid Diagnostic Test*



Bekerja dengan cara mendeteksi antigen parasit malaria menggunakan metode imunokromatografi. Pemeriksaan RDT tidak untuk mengevaluasi pengobatan.

## 2.6 Obat Antimalaria

Berdasarkan Muti'ah, 2013; Sardjono dan Loeki, 2011 , Obat antimalaria dapat digolongkan menjadi beberapa jenis berdasarkan tempat dan cara kerjanya yaitu :

1. Skizontisida jaringan (*tissue schizonticide*)

Mencegah stadium eritrositik terjadi karena bekerja pada stadium pre-eritrositik di hepar.

Contoh: Primakuin, Proguanil, dan Pirimetamin.

2. Skizontisida darah (*blood schizontocide*)

Obat tipe ini bekerja pada saat stadium eritrositik tidak hanya pada skizon namun juga pada stadium aseksual lain seperti *ring form*, trophozoit, dll.

Contoh: Klorokuin, Kuinin/Kina, Kuinidin, Meflokuin, Halofantrin, Sulfonamida, Tertasiklin, dan Artemisin beserta turunannya.

3. Gametosida (*gametocytocide*)

Stadium seksual (gametosit) parasit dalam darah manusia akan dibunuh oleh obat jenis ini.

Contoh: Primakuin.

4. Sporontosida (*sporontocide*)

Menghambat pertumbuhan parasit dalam tubuh nyamuk. Apabila obat diberikan pada karier gametosit maka akan mencegah terjadinya penularan.

Contoh: Primakuin, Proguanil, dan Pirimetamin.

#### 5. Antirelaps

Kekambuhan pada infeksi *P.ovale* dan *P.vivax* dicegah dengan obat jenis ini. Obat jenis ini umumnya diberikan setelah pemberian obat jenis skizontisida darah.

Contoh: Primakuin.

Pengobatan medikamentosa pada infeksi malaria telah digolongkan berdasarkan jenis *Plasmodium* yang menginfeksi. Berdasarkan Kemenkes 2017, berikut adalah regimen pengobatan yang digunakan pada infeksi malaria tanpa komplikasi:

##### 1. Pengobatan malaria *falciparum* dan *vivax*

Obat yang digunakan untuk kedua jenis malaria ini adalah ACT dan primakuin. Dosis ACT untuk keduanya sama. Primakuin untuk malaria *falciparum* hanya diberikan pada hari pertama dengan dosis 0,25 mg/kgBB sementara malaria *vivax* selama 14 hari dengan dosis yang sama.

Dihidroartemisin-Piperakuin (DHP) + Primakuin

Hari	Jenis obat	Jumlah tablet per hari menurut berat badan							
		<4 kg	4-6kg	>6-10 kg	11-17 kg	18-30 kg	31-40 kg	41-59 kg	≥60kg
		0-1 bulan	2-5 bulan	<6-11 bulan	1-4 tahun	5-9 tahun	10-14 tahun	≥15 tahun	≥15 tahun
1-3	DHP	¼	½	½	1	1½	2	3	4
1	Primakuin	-	-	¼	¼	½	¾	1	1

**Gambar 2.17 Pengobatan Terhadap Infeksi *P. falciparum* Menurut Berat Badan** (Kemenkes, 2017)

Hari	Jenis obat	Jumlah tablet per hari menurut berat badan							
		<4 kg	4-6kg	>6-10 kg	11-17 kg	18-30 kg	31-40 kg	41-59 kg	≥60kg
		0-1 bulan	2-5 bulan	<6-11 bulan	1-4 tahun	5-9 tahun	10-14 tahun	≥15 tahun	≥15 tahun
1-3	DHP	¼	½	½	1	1½	2	3	4
1-14	Primakuin	-	-	¼	¼	½	¾	1	1

**Gambar 2.18 Pengobatan Terhadap Infeksi *P. vivax* Menurut Berat Badan** (Kemenkes, 2017)

2. Pengobatan relaps malaria vivax

Regimen yang digunakan regimen ACT yang sama ditambah Primakuin ditingkatkan dosisnya menjadi 0,5mg/kgBB/hari.

3. Pengobatan malaria *ovale*

Pengobatan yang diberikan adalah menggunakan DHP tambah Primakuin yang dikonsumsi selama 14 hari dengan dosis yang sama pada malaria *vivax*.

4. Pengobatan malaria *malariae*

ACT diberikan dalam 3 hari dengan aturan minum 1 kali sehari dan dosisnya sama dengan pengobatan malaria jenis lain namun tidak diberikan Primakuin pada pengobatan malaria *malariae*.

5. Pengobatan infeksi campuran *P. falciparum* dan *P.vivax/P.ovale*

ACT diberikan selama 3 hari serta Primaquin selama 14 hari dengan dosis 0,25mg/kgBB/hari.

Hari	Jenis obat	Jumlah tablet per hari menurut berat badan							
		< 4 kg	4-6kg	>6-10 kg	11-17 kg	18-30 kg	31-40 kg	41-59 kg	≥60kg
		0-1 bulan	2-5 bulan	<6-11 bulan	1-4 tahun	5-9 tahun	10-14 tahun	≥15 tahun	≥15 tahun
1-3	DHP	½	½	½	1	1½	2	3	4
1-14	Primaquin	-	-	¼	¼	½	¾	1	1

**Gambar 2.19 Pengobatan Terhadap Infeksi Campuran *P. falciparum* dengan *P. vivax/P. ovale* Menurut Berat Badan**  
(Kemenkes, 2017)

## 2.7 *Plasmodium berghei*

*P.berghei* adalah parasit malaria pada hewan pengerat dan sangat berharga dalam kemajuan pemahaman mengenai biologi molekuler dan seluler dari parasit malaria. Ketersediaan inang seperti tikus dan vektor seperti *Anopheles* membuat parasit ini menjadi sistem yang cocok untuk mempelajari hubungan inang-parasit dan vektor-parasit (Dehghan *et al.*, 2018). Pada mencit, *P.berghei* lebih cepat berkembang daripada pada hewan pengerat jenis lain (Andika, 2017).

*P.berghei* memiliki siklus hidup serta morfologi yang mirip parasit malaria pada manusia yaitu perpaduan antara *P.falciparum* dengan *P.vivax* (Marhamah and Husna, 2019). Ukuran genom dari *P.berghei* adalah 18-20 Mb, jumlah kromosom adalah 14 dengan ukuran berkisar antara 0,6-3,8 Mb (Darmawan, 2014). Penelitian malaria banyak menggunakan *P.berghei* sebagai pengganti

*P.falciparum*. Hal ini dikarenakan ukuran genom *P.berghei* paling mirip dengan yang dimiliki *P.falciparum*. Selain itu, terdapat sifat biokimiawi yang mirip antara keduanya (Andika, 2017). Penelitian yang dilakukan oleh Tan *et al* tahun 1996 atas dasar immunological cross-reactivity, mengidentifikasi bahwa antigen 43-kDa dari *P.berghei* homolog dengan antigen exp-1 dari *P.falciparum*. Antigen *P.berghei* dikenali oleh antibodi yang ditujukan untuk melawan epitop pada C-terminus dari exp-1 *P.falciparum* (Tan *et al.*, 1996).

Banyak spesies dan strain dari *Plasmodium* yang digunakan secara eksperimental. Jenis yang paling banyak digunakan sebagai model penyakit malaria selama ini adalah *P.berghei* galur ANKA. *P.berghei* galur ANKA memiliki kemampuan untuk sekuestrasi dalam mikrosirkulasi yang merupakan karakteristik dari malaria berat (Basir *et al.*, 2012).

## **2.8 Pare (*Momordica charantia* L.)**

### **2.8.1 Taksonomi dan Morfologi Pare**

*Momordica charantia* L dikenal juga dengan nama *bitter melon*, *bitter gourd*, *balsam pear*, karela dan pare. Tumbuhan ini berkembang secara alami di daerah tropis seperti Amazon, Afrika Timur, Asia, Amerika Selatan, dan Karibia. Nama latin *Momordica* berarti “menggigit” yang bermaksud menggambarkan tepi daun yang tidak rata seolah-olah telah digigit (Akanji *et al.*, 2016).

Tanaman pare dapat diklasifikasikan berdasarkan taksonomi sebagai berikut (Ahmad *et al.*, 2016; Wijaya, 2019):

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida  
Ordo : Curcubitales  
Famili : Curcubitaceae  
Genus : *Momordica*  
Spesies : *Momordica charantia* L



**Gambar 2.20 Tanaman Pare** (*Anonymous*)

Tanaman pare merupakan tanaman berumur setahun dan merupakan tanaman perambat. Daunnya merupakan daun gantung berbentuk bulat sedikit berkerut dan terbagi menjari menjadi 5, bergerigi, dan memiliki garis tengah berukuran 4-7 cm. Bunga terdiri dari jantan dan betina yang memiliki tangkai sepanjang 5-17 cm, warna pucat pada daun kelopak, dan warna kuning pada daun mahkotanya. Batangnya kusut, buahnya berbentuk lonjong memanjang 8-10 cm dengan permukaan yang memiliki tonjolan tidak beraturan dan kedua ujung buahnya meruncing tumpul. Biji pare berwarna coklat kekuningan. Semua bagian dari tanaman pare terasa pahit (Satriani, 2010).

### **2.8.2 Kandungan Senyawa Fitokimia pada Pare**

Pare kaya akan kandungan fitokimia seperti senyawa bioaktif, vitamin, mineral, dan antioksidan yang memberikan kontribusi pada kemampuannya dalam menjadi obat berbagai macam penyakit. Daun dan buah pare kaya akan vitamin A, B, C, E, zat besi, kalsium, fosfor, dan beta karoten (Akanji *et al.*, 2016). Pare mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder. Senyawa-senyawa tersebut antara lain alkaloid, glikosida (momordisi, karantin), tannin, saponin, flavonoid, asam trioksinat, zat besi, asam linoleat, kalsium, resin, asam resinat, garam fosfat, asam oleat, asam stearat, charantin, cucurbitacin, L-olestearat (Mozaniel *et al.*, 2018; Susilawati and Hermansyah, 2014; Wijaya, 2019). Buah pare mengandung glikosida, saponin, alkaloid, pereduksi gula, resin, konstituen fenolik, *fixed oil*, dan asam bebas. Daun pare mengandung kalsium (1%), magnesium (4%), kalium (7%), fosfor (5%), dan besi (3%). Daun dan buah pare menjadi sumber vitamin B yang bagus yaitu vitamin B1, B2, B3, B6, dan B9 (Gupta *et al.*, 2011).

### **2.8.3 Aktivitas Farmakologi Pare**

#### **1. Efek Antimalaria**

Tanaman pare secara tradisional dianggap oleh orang Asia sebagai tanaman yang berguna untuk mencegah dan mengobati malaria. Studi laboratorium membuktikan bahwa berbagai spesies pare memiliki aktivitas antimalaria (Ahmad *et al.*, 2016). Salah satu masalah terbesar yang dihadapi tenaga kesehatan mengenai malaria adalah semakin banyaknya resistensi parasit terhadap obat antimalaria (Mozaniel *et al.*, 2018). Pada tahun 1989 dilaporkan adanya resistensi *P.vivax* terhadap klorokuin. Infeksi terjadi kepada dua tentara Australia yang kembali dari Papua Nugini walaupun telah mengonsumsi klorokuin dengan dosis 300 mg

setiap minggu sebagai profilaksis. Parasitemia tidak sembuh setelah salah satu tentara tersebut diobati dengan 600 mg klorokuin (Rieckmann *et al.*, 1989). Tahun 1991 di Irian Jaya dilaporkan adanya resistensi *P. vivax* pertama kalinya terhadap klorokuin (Nurhayati, 2008).

Kemajuan dalam teknik molekuler sangat berguna untuk mendeteksi resistensi obat pada parasit malaria. Resistensi klorokuin pada *P.falciparum* dikaitkan dengan gen *Pfcr* (*P.falciparum chloroquine resistant transporter*) dan *Pfmdr1* (*P.falciparum multidrug resistance 1*) (Antony *et al.*, 2016). Mutasi pada *Pfmdr1* terutama pada kodon 86, dimana asparagin diubah menjadi tirosin, telah diidentifikasi memodulasi tingkat resistensi klorokuin yang lebih tinggi. Polimorfisme 76-Ser ke Thr yang terletak pada kromosom 7 diketahui menjadi kunci pada kejadian resistensi klorokuin *P.falciparum*. mutasi pada gen-gen ini menyebabkan *efflux* klorokuin ke sitoplasma dan modifikasi dari derajat keasaman, yang memiliki peran penting dalam resistensi klorokuin (Saleh *et al.*, 2014). Penggunaan klorokuin juga memiliki beberapa efek samping dimana yang paling serius adalah retinopati, kardiomiopati, miopati, dan neuromiopati sementara efek samping yang paling umum dilaporkan adalah reaksi pada gastrointestinal (Braga *et al.*, 2015). Oleh karenanya untuk menghindari resistensi, penggunaan senyawa bioaktif yang berasal dari tumbuhan obat seperti pare menjadi salah satu jalan keluar sebagai potensial obat antimalaria baru (Mozaniel *et al.*, 2018).

Pare memiliki aktivitas antiprotozoal dan ekstrak metanolnya memiliki efek antimalaria pada dosis di atas 200mg/kg. Aktivitas



antimalaria pada pare dapat terkait dengan efek sinergis dan antagonis dari metabolit aktif kimiawi yang ada di dalam ekstrak seperti alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, kuinon, steroid, triterpenoid dan kumarin (Mozaniel *et al.*, 2018).

Alkaloid dari tumbuhan berkontribusi terhadap perkembangan obat antimalaria (Akanji *et al.*, 2016). Ekstrak alkaloid yang diperoleh dari tumbuhan obat memiliki keanekaragaman aktivitas biologis termasuk efek antimalaria, antimikroba, antihiperglikemik, antiinflamasi dan farmakologis (Abdillah and Farida, 2019). Alkaloid umumnya mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang memiliki sifat basa dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik (Swaminathan, 2011). Meskipun mekanisme kerja alkaloid pada pare belum diketahui secara pasti namun diduga memiliki kemiripan dengan salah satu obat antimalaria yang bersifat skizontisida darah yaitu kina (Rajendran, 2011). Kina dikenal juga dengan kuinin adalah alkaloid yang bertindak sebagai skizontisida darah dan gametosida lemah dalam melawan infeksi *P. vivax* dan *P. malariae* (Amutha and Devi, 2019).

Kandungan fitokimia seperti terpenoid juga terlibat dalam potensi aktivitas antiprotozoal dan antiplasmodial (Akanji *et al.*, 2016). Triterpenoid adalah senyawa kimia yang tersusun atas 4 atau 5 konfigurasi cincin dari 30 atom karbon dan beberapa oksigen. Seperti halnya alkaloid, mekanisme kerja triterpenoid belum diketahui pasti namun diperkirakan triterpenoid terlibat dalam kerusakan membran sel oleh senyawa lipofilik (Rajendran, 2011).

Potensi antiparasit yang substansial untuk melawan berbagai jenis malaria telah ditunjukkan oleh senyawa flavonoid. Sebuah hasil penelitian menunjukkan potensi antimalaria yang tinggi jika dibandingkan dengan klorokuin yang memberikan 100% pada dosis 20mg/kg (Akanji *et al.*, 2016). Beberapa sumber menyatakan kemampuan penghambatan parasit oleh bioflavonoid terjadi melalui mekanisme aksi dengan dua target utama yaitu pada membran yang dibentuk parasit saat stadium eritrositik dengan penghambatan transport nutrisi yang esensial bagi parasit. Kedua pada vakuola makanan parasit malaria melalui penghambatan proses degradasi hemoglobin dan detoksifikasi heme (Widyawaruyanti and Zaini, 2011).

## 2. Efek Antimikroba

Studi *in vitro* menunjukkan ekstrak pare dan analog protein MAP30 yang didapatkan dari mengekstrak biji pare, memiliki aktivitas antimikroba spektrum luas. Ekstrak pare dapat menghambat infeksi dan pertumbuhan virus seperti HIV, Epstein Barr, dan Herpes Simpleks. Ekstrak pare menghambat replikasi HIV dengan mencegah syncytial formation dan infeksi antar sel. Selain itu, dapat pula menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif, gram positif, dan organisme parasit seperti *E. histolytica* dan *P. falciparum* (Ahmad *et al.*, 2016).

## 3. Efek Antikanker

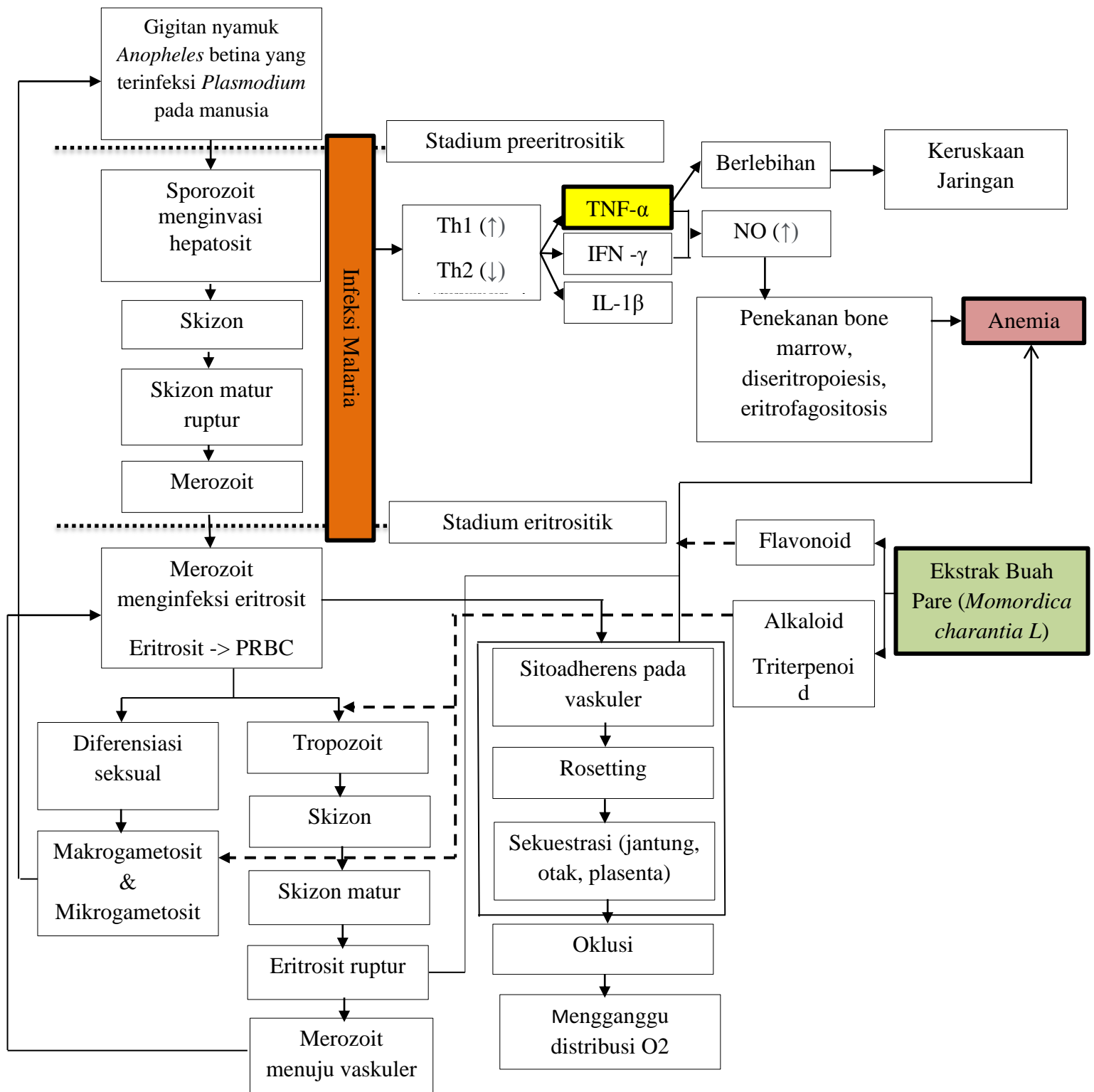
Pare diketahui dapat mencegah pertumbuhan sel kanker dengan cara menginduksi proses apoptosis (Mozaniel *et al.*, 2018). Studi *in vitro* menunjukkan ekstrak buah dan biji pare mencegah pertumbuhan dari

beberapa sel kanker termasuk adenokarsinoma prostat, kanker kolon, dan kanker payudara (Ahmad *et al.*, 2016).

#### 4. Efek Antioksidan

Pare telah menunjukkan aktivitas antioksidan, dapat mencegah terjadinya stress oksidatif, dan juga memiliki aktivitas kardioprotektif. Pare dinyatakan memiliki kemampuan untuk mengeliminasi ROS. Secara umum, spesies ini memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan sehingga dapat digunakan sebagai makanan yang dapat bertindak menjadi pengendali stress oksidatif (Mozaniel *et al.*, 2018)

## 2.9 Kerangka Teori



Gambar 2.21 Bagan Kerangka Teori

Keterangan :



: Variabel yang diteliti



: Variabel yang tidak diteliti



: Stimulasi



: Inhibisi

Keterangan :

Infeksi malaria dimulai pertama kali oleh gigitan nyamuk *Anopheles* betina yang telah terinfeksi *Plasmodium sp* pada manusia. Sporozoit yang berada pada kelenjar ludah nyamuk akan masuk melalui dermis dan mengalir mengikuti aliran darah menuju ke salah satu organ retikuloendotelial yaitu hati/hepar. Sporozoit selanjutnya menginvasi sel hepatosit dan berubah menjadi skizon hati. Skizon yang telah matur akan ruptur dan mengeluarkan ribuan merozoit. Stadium ini dinamakan sebagai stadium preeritrositik.

Ribuan merozoit yang keluar dari hati akan menuju aliran darah dan melakukan invasi pada eritrosit. Invasi merozoit ke dalam eritrosit menandakan stadium eritrositik telah dimulai. Di dalam membran eritrosit, merozoit berdiferensiasi menjadi tropozit yang akan melakukan pembelahan dan perkembangan. Tropozit selanjutnya menjadi skizon dan ketika skizon telah matur, maka akan mengalami ruptur dan mengeluarkan merozoit yang akan mengulang siklus eritrositik. Namun, beberapa merozoit tidak mengalami pembelahan ini namun melakukan diferensiasi seksual menjadi bentuk makrogametosit dan mikrogametosit. Makrogametosit dan mikrogametosit masuk

ke dalam tubuh nyamuk yang menghisap darah seseorang yang menderita malaria sehingga berlangsung siklus seksual di dalam tubuh nyamuk.

Eritrosit yang telah terinfeksi parasit berubah menjadi *Parasitized Red Blood Cells* (PRBC). PRBC selanjutnya melalui beberapa kejadian yaitu sitoadherens pada vaskuler, rosetting antara PRBC dan eritrosit yang tidak terinfeksi, dan sekuestrasi pada organ-organ vital seperti otak, jantung, plasenta. Kejadian ini dapat mengakibatkan oklusi vaskuler yang dapat berakibat pada gangguan distribusi oksigen ke jaringan. Selain itu, karena banyaknya eritrosit yang tidak terbawa aliran darah karena terjadinya sitoadherens, rosetting, dan sekuestrasi eritrosit pada endotel maka dapat menyebabkan timbulnya anemia.

Ketika parasit *Plasmodium* berhasil menginvasi, maka akan timbul respon imun dari tubuh manusia. Respon imun dipengaruhi oleh interaksi antara *Pathogen Associated Molecular Patterns* (PAMPs) dengan reseptor yang diekspresikan oleh sel host. Sindrom kompleks malaria berkaitan dengan peningkatan kadar sitokin proinflamasi yang dihasilkan oleh Th1 dan penurunan kadar sitokin antiinflamasi yang merupakan produk dari Th2. Sitokin proinflamasi yang mengalami peningkatan diantaranya TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ . TNF- $\alpha$  memiliki peran ganda dalam patogenesis malaria. Ketika kadar TNF- $\alpha$  berlebihan berkaitan dengan keparahan penyakit malaria akibat terjadinya kerusakan jaringan yang berat. Selain itu overproduksi dari TNF- $\alpha$  dan IFN- $\gamma$  yang meningkatkan produksi NO berkontribusi pada kejadian anemia melalui penekanan dari *bone marrow*, diseritropoiesis, dan eritrofagositosis.

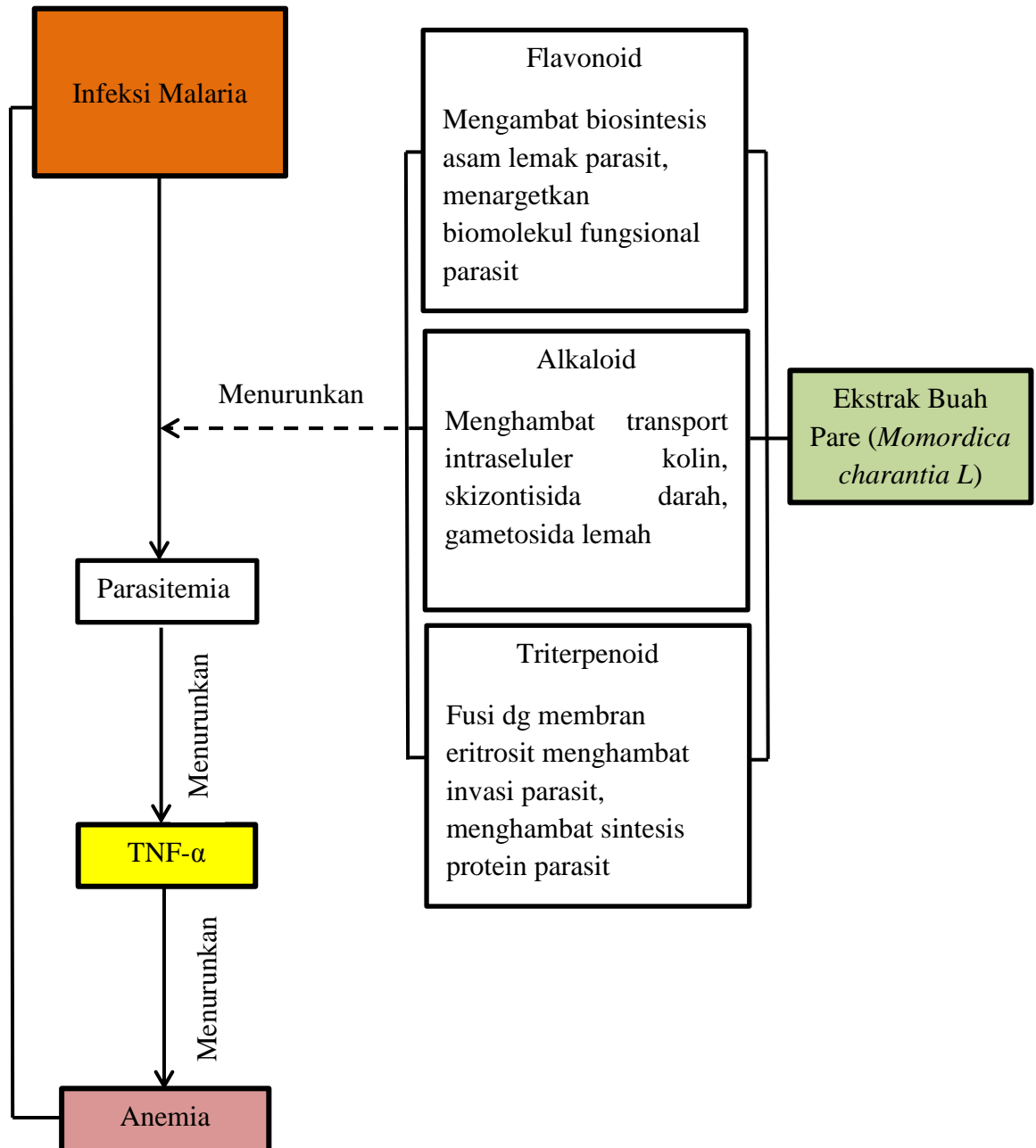
Pare diduga memiliki efek antimalaria. Aktivitas antimalaria pada pare terkait dengan efek dari kandungan metabolit aktif kimiawi didalamnya seperti

alkaloid, triterpenoid, dan flavonoid. Mekanisme kerja dari alkaloid pada pare belum sepenuhnya diketahui namun diduga memiliki kemiripan dengan obat antimalaria yaitu kina yang bekerja sebagai skizontisida darah dan gametosida lemah. Sama halnya dengan alkaloid, kandungan triterpenoid juga memiliki efek antimalaria yang belum diketahui sepenuhnya namun diperkirakan terlibat dalam merusak membran sel oleh senyawa lipofilik. Selain itu kandungan flavonoid menurut beberapa sumber menyatakan memiliki mekanisme aksi dengan dua target utama yaitu pada membran yang dibentuk parasit pada saat stadium eritrositik dengan penghambatan transport nutrisi bagi parasit dan pada vakuola makanan parasit melalui penghambatan proses degradasi hemoglobin dan detoksifikasi heme. Sehingga berdasarkan mekanisme-mekanisme kerja tersebut diharapkan ekstrak buah pare ini, dapat mengurangi jumlah parasit dalam tubuh host yang akan berefek pada penurunan mediator-mediator proinflamasi yang dihasilkan dan juga menurunkan insiden anemia.

## BAB III

### KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

#### 3.1. Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep



Penjelasan :

Infeksi Malaria menyebabkan terekspresinya sitokin proinflamasi salah satunya yaitu TNF- $\alpha$ . Terekspresinya TNF- $\alpha$  memiliki pengaruh pada kejadian anemia melalui peningkatan produksi NO yang berakibat pada penekanan dari *bone marrow*, diseritropoiesis, dan eritrofagositosis. Ekstrak buah pare memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder antara lain flavonoid, alkaloid, dan triterpenoid yang diperkirakan memiliki aktivitas antimalaria sehingga dapat menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  dan kejadian anemia pada infeksi malaria.

### **3.2. Hipotesis Penelitian**

Hipotesis dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- H0 : Pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L*) tidak berpengaruh terhadap penurunan ekspresi TNF- $\alpha$  dan angka kejadian anemia pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.
- H1 : Pemberian ekstrak buah pare (*Momordica charantia L*) berpengaruh terhadap penurunan ekspresi TNF- $\alpha$  dan angka kejadian anemia pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.

## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1. Desain Penelitian

Penelitian ini berjenis eksperimental murni yang dikerjakan secara in vivo di laboratorium. Penelitian dilakukan dengan membandingkan mencit yang diinfeksi malaria kemudian diberikan ekstrak buah pare dengan kelompok kontrol yaitu mencit di infeksi *Plasmodium berghei* tetapi tidak diberi ekstrak buah pare.

Penelitian dibagi menjadi empat kelompok yaitu :

- a. Kelompok kontrol (n=6) yaitu mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* tanpa diberi ekstrak buah pare.
- b. Kelompok perlakuan 1 yaitu mencit diinfeksi *Plasmodium berghei* (n=6), diberi ekstrak buah pare dengan dosis 0,25 mg/grBB.
- c. Kelompok perlakuan 2 yaitu mencit di infeksi *Plasmodium berghei* (n=6), diberi ekstrak buah pare dengan dosis 0,5 mg/grBB.
- d. Kelompok perlakuan 3 yaitu mencit di infeksi *Plasmodium berghei* (n=6), diberi ekstrak buah pare dengan dosis 1 mg/grBB.

Variabel penelitian yang akan diamati/diukur meliputi :

- a. Variabel bebas (*Independent*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak buah pare.

- b. Variabel terikat (*Dependent*)

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah TNF- $\alpha$  dan anemia.

#### 4.2. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian bertempat di Laboratorium Parasitologi UIN Malang, Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dan Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Waktu penelitian dilaksanakan mulai bulan Oktober tahun 2020 sampai Januari tahun 2021.

#### **4.3. Populasi Penelitian**

Penelitian menggunakan hewan coba mencit dikarenakan mencit adalah hewan coba yang mudah dipelihara, ditangani, maupun dikembangbiakkan. Galur mencit yang dipilih adalah galur Balb/c karena dalam memperagakan status terhadap malaria, galur ini adalah model yang baik.

#### **4.4. Sampel Penelitian**

##### **4.4.1 Penentuan Besar Sampel**

Dalam penentuan besar sampel penelitian eksperimental murni di laboratorium, rumus yang digunakan adalah rumus Federer yaitu :

$$\{(t-1)(n-1)\} \geq 15$$

$$\{(4-1)(n-1)\} \geq 15$$

$$3n - 3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

Keterangan:

t : jumlah kelompok

n : jumlah sampel

Berdasarkan rumus tersebut ditentukan ukuran sampel untuk masing-masing kelompok adalah 6 mencit. Dikarenakan terdapat 4 kelompok, maka jumlah mencit yang digunakan adalah 24 ekor.

#### **4.4.2 Teknik Pengambilan Sampel**

Teknik sampling yang digunakan adalah *non probability sampling* yaitu *purposive sampling*. Berdasarkan Gahayu (2015), *purposive sampling* digunakan apabila terdapat pertimbangan tertentu oleh peneliti dalam pengambilan sampel yang sesuai dengan kriteria inklusi penelitian.

#### **4.4.3 Karakteristik Sampel**

##### **4.4.3.1 Kriteria Inklusi**

Kriteria mencit yang digunakan sebagai model adalah sebagai berikut :

- a. Mencit dewasa (13-16 minggu) berjenis kelamin jantan
- b. Belum kawin
- c. Memiliki BB antara 20-30 gram
- d. Tidak cacat fisik

##### **4.4.3.2 Kriteria Eksklusi**

- a. Mati pada saat masa perlakuan

#### **4.5. Alat dan Bahan Penelitian**

##### **4.5.1 Perawatan Mencit**

Alat dibutuhkan yaitu tempat tinggal untuk 6 ekor mencit, tempat minum, dan tempat makan mencit. Bahan yaitu pakan mencit jenis BR-1, jagung, air minum, serta sekam.

##### **4.5.2 Pembuatan Ekstrak Pare**

Menggunakan alat gelas beaker, batang pengaduk, labu erlenmeyer, oven, corong, sendok tanduk, kaca arloji, cawan, *rotatory vacuum evaporator*, neraca analitik, kertas saring, *ultrasonic cleaner*. Bahan yang digunakan buah pare, air, etanol 96%.

#### **4.5.3 Inokulasi *Plasmodium berghei***

Inokulasi membutuhkan alat antara lain mikropipet, tip kuning, tabung *ependorf*, , tabung *falcon* 15 ml, hemositometer, gelas obyek, gunting steril, spuit insulin 1 ml, dan mikroskop. Bahan yang dibutuhkan yaitu *Plasmodium berghei* dari darah mencit terinfeksi, *Ethylene Diamine Tetra Acetic Acid* (EDTA), larutan Phosphate Buffer Saline (PBS), larutan magnesium, larutan Giemsa dan buffer, methanol p.a, dan kapas alkohol.

#### **4.5.4 Pengukuran Derajat Parasitemia dan Jumlah Eritrosit**

Alat yang digunakan yaitu mikropipet, tip kuning, pipet, hemositometer, tabung *ependorf*, *object glass*, kaca penutup, gunting steril, dan mikroskop. Bahannya antara lain kapas alkohol, buffer Giemsa & larutan Giemsa, methanol p.a, minyak emersi.

#### **4.5.5 Pengambilan Sampel Hati (Pembedahan Mencit)**

Alat yang dibutuhkan antara lain alas bedah, jarum, spuit, gunting bedah, pinset, sprayer, botol plastik tempat jaringan, dan timbangan digital. Bahan terdiri dari alkohol dan formalin cair 10 %.

##### **a. Metode Imunohistokimia**

Untuk memeriksa TNF- $\alpha$  dengan metode imunohistokimia alat yang digunakan ialah labu erlenmeyer, pipet tetes, mikropipet, yellow tip, kaca preparat, kaca penutup, tabung *ependorf*, gelas ukur, tisu. Bahan yang digunakan

antara lain aquades, air kran, larutan PBS. Bahan antara lain Antibodi anti-TNF- $\alpha$  Chip Grade dari abcam, entelan.

#### **b. Pemeriksaan Anemia**

Pemeriksaan hemoglobin menggunakan metode *Cyanmethemoglobin*. Absorbansi larutan diukur dengan gelombang 540nm. Alat yang digunakan adalah spektrofotometer, mikropipet, tabung reaksi. Bahan antara lain larutan Drabkins, antikoagulan EDTA, dan darah mencit.

#### **4.6. Definisi Operasional**

- a. Lama waktu infeksi : lama hari mencit mulai diinfeksi oleh parasit *Plasmodium* hingga mencit dibedah. Lama waktu infeksi adalah 9 hari
- b. Derajat parasitemia : persentase jumlah eritrosit yang mengandung parasit dihitung di antara 1000 eritrosit pada sediaan apusan tipis dengan pengecatan Giemsa Pemeriksaan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 1000 kali.
- c. *Plasmodium berghei* : *Plasmodium* galur ANKA yang menginfeksi mencit, di dapatkan dari persediaan di Laboratorium Parasitologi Universitas Brawijaya. *Plasmodium* dengan konsentrasi  $10^6$  dalam 0,2 mL darah diinfeksi secara intraperitoneal pada mencit galur Balb/c.
- d. Anemia : keadaan hemoglobin mencit yang diperiksa menggunakan metode cyanmethemoglobin adalah  $< 13\text{gr}/100\text{ml}$ .
- e. TNF- $\alpha$  : hasil pemeriksaan jaringan menggunakan metode imunohistokimia menampilkan warna coklat pada inti sel dan daerah ekstraseluler di sel hati.

- f. Pemberian ekstrak buah pare : pemberian ekstrak buah pare secara peroral menggunakan sonde lambung kepada mencit dengan dosis yang berbeda-beda antar kelompok. Dilakukan selama selama 5 hari.

#### **4.7 Prosedur Penelitian**

##### **4.7.1 Sampel Mencit**

Mencit diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan Universitas Gadjah Mada.

##### **4.7.2 Pembuatan Ekstrak Buah Pare**

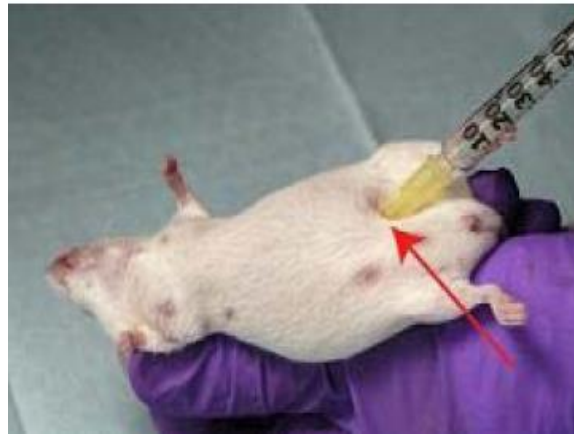
Serbuk buah pare 30 gram di maserasi dengan etanol 96% sebanyak 300 ml selama 3 hari kemudian disaring dipisahkan filtrat dengan ampas, filtrat dievaporasi menggunakan alat rotavapor sampai pelarut menguap habis selama 30 menit dan didapatkan ekstrak sebanyak 14 gram.

##### **4.7.3 Infeksi *Plasmodium berghei* Galur ANKA**

Dilakukan inokulasi *P. berghei* galur ANKA (hasil thawing dari liquid nitrogen) kepada mencit donor secara intraperitoneal sebesar  $1 \times 10^6$ /ml. Kemudian hari ke-4 pasca inokulasi, dilakukan penghitungan parasitemia dengan mengambil darah dari ujung ekor mencit lalu dibuat apusan darah tipis yang dipulas dengan pewarnaan Giemsa. Jumlah parasit dihitung per 1000 eritrosit. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x Untuk menghitung jumlah eritrosit, dari ujung ekor mencit donor diambil darah sebanyak 10  $\mu$ L dan dilakukan pengenceran  $10^3$  dengan larutan PBS lalu jumlah eritrosit dihitung menggunakan kamar hitung Naubauer. Jumlah eritrosit/ml darah diketahui dengan rumus  $(N \times 5 \times 10^4 \times \text{pengenceran})$ , dengan N adalah jumlah eritrosit. Selanjutnya, jumlah parasit mencit donor dihitung dengan mengalikan jumlah eritrosit/ml

darah dengan prosentase parasitemia. Jumlah parasit yang hendak diberikan sebesar  $1 \times 10^6$ /ml darah, sehingga pengenceran yang dilakukan untuk mendapatkan jumlah parasit tersebut adalah jumlah parasit/ $1 \times 10^6$ . Mencit dinyatakan siap sebagai donor infeksi bagi mencit perlakuan jika derajat parasitemia mencit donor mencapai lebih dari 15%.

Inokulasi hewan coba dilakukan dengan cara parasitemia mencit donor yang telah diencerkan diinjeksikan ke dalam peritoneal hewan coba. Prosedur inokulasi ialah tengkuk mencit dipegang untuk membalikkan tubuh mencit sehingga tampak bagian perut dari mencit dengan bagian kepala lebih rendah daripada badan. Daerah penyuntikan dibersihkan terlebih dahulu dengan etanol 70%. Selanjutnya jarum steril ditusukkan dengan kemiringan sebesar 30 derajat ke bagian kuadran kanan atau kiri bawah dari perut mencit. Lakukan aspirasi terlebih dahulu guna memastikan penusukan telah tepat kemudian material diinjeksikan.



**Gambar 4.1. Teknik dan lokasi teknik infeksi *Plasmodium berghei* pada hewan coba mencit**

#### **4.7.4 Pembuatan Apusan Darah dan Pengecatan Giemsa**



Darah dari ekor mencit diteteskan sebanyak 10  $\mu$ L pada *object glass* dan dibuat apusan, kemudian dikeringkan. Selanjutnya apusan diberi methanol absolut hingga merata dan ditunggu hingga kering. Setelah kering dilakukan pengecatan dengan Giemsa yang merupakan campuran pulas Giemsa dengan buffer Giemsa dengan rasio 1:9 lalu dibiarkan selama 30 menit. Setelah 30 menit, dilakukan pembilasan kemudian dikeringkan. Derajat parasitemia dilihat dengan memeriksa apusan darah menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x. Untuk perhitungan persentase parasitemia dihitung berdasarkan jumlah eritrosit yang terinfeksi malaria dalam 1000 eritrosit. Pengukuran derajat parasitemia menggunakan apusan yang berasal dari darah mencit dilakukan setiap hari untuk mengetahui peningkatan parasitemia.

#### **4.7.5 Isolasi Darah dan Hati**

Mencit dibedah untuk pengambilan darah dan organ hati pada hari ke 6 pasca pemberian ekstrak pare untuk pengecekan variabel. Pembedahan dilakukan dengan teknik dislokasi leher. Mencit diletak di atas papan untuk dibedah. Pembedahan dilakukan dengan membuka kulit abdomen lalu rongga thoraks. Selanjutnya darah diambil secara intrakardiak sebanyak @500ul dan disimpan dalam vacutainer EDTA untuk pemeriksaan anemia. Hati di simpan di botol organ dengan formalin 10%. Mencit yang sudah dibedah selanjutnya dikuburkan di dalam tanah.

#### **4.7.6 Pembuatan Slide Histologi**

Prosedur pembuatan slide histologi adalah sebagai berikut :

##### **a. Proses Pemotongan Jaringan Berupa Makros**

Gross hasil bedah dimasukan ke dalam larutan formalin 10% (fiksasi) dan dibiarkan selama semalam. Kemudian dilakukan pemilihan jaringan terbaik sesuai yang akan diteliti. Selanjutnya jaringan dipotong dengan ketebalan kurang lebih 2-3 mm dan dimasukkan ke kaset jaringan serta diberikan kode sesuai kode gross peneliti. Sebelum diproses menggunakan alat *Tissue Tex Processor*, dimasukan terlebih dahulu ke larutan formalin 10 %. Proses memakan waktu sekitar 90 menit. Bunyi alarm menandakan proses telah selesai.

#### **b. Proses Pengeblokan dan Pemotongan Jaringan**

Jaringan yang telah diproses di mesin *Tissue Tex Processor* di angkat dan selanjutnya di blok dengan paraffin sesuai dengan kode jaringan. Kemudian jaringan di potong dengan alat *microtome* ketebalan 3-5 mikron.

#### **c. Proses deparafinisasi**

Setelah di sayat atau di potong dengan ketebalan 3-5 mikron, jaringan dioven selama 30 menit dengan suhu sebesar 70-80 derajat kemudian di masukan ke dalam 2 tabung larutan xylol masing-masing 20 menit. Kemudian dimasukkan ke 4 tabung alkohol dengan durasi masing-masing tempat 3 menit (hidrasi) dan yang terakhir dimasukan air mengalir selama 15 menit.

#### **4.7.7 Pemeriksaan TNF- $\alpha$ pada Organ Hati**

Pemeriksaan TNF-  $\alpha$  dilakukan dengan metode imunohistokimia di Laboratorium Patologi Anatomi FKUB. Untuk pengecatan imunohistokimia pada slide dilakukan deparafinisasi dengan xylol 2x10 menit, ethanol absolute 1x5 menit, ethanol 90% 1x5 menit, ethanol 80% 1x5 menit, ethanol 70% 1x5 menit,

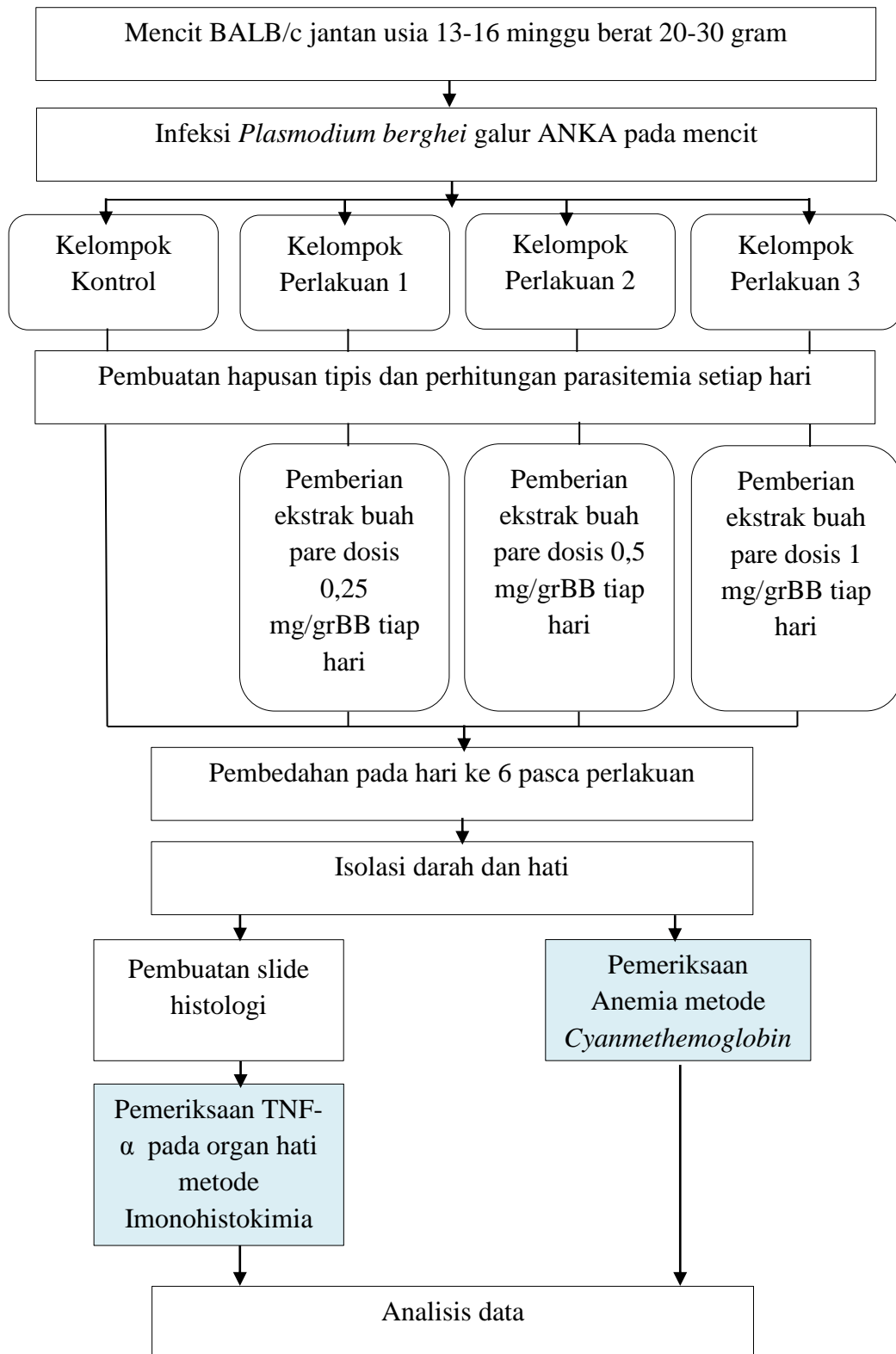
aquades steril 3x5 menit. Slide selanjutnya dicuci dengan PBS steril 3x5 menit, dikeringkan dan ditetesi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% dalam methanol dan diinkubasi selama 15–20 menit. Selanjutnya, dicuci dengan PBS steril 3x5 menit. Kemudian, dilakukan *antigen retrieval* (AR) menggunakan *Heat induced epitope retrieval* (HIER) dengan pemanasan 95°C dalam *water bath* selama 20 menit dalam buffer citrate pH 0,6. Slide didinginkan secara perlahan. *Blocking* protein yang tidak spesifik dilakukan dengan meneteskan triton-x100 0.25% dalam *blocking buffer* BSA selama 1 jam suhu ruang dan dicuci dengan PBS steril 3x5 menit. Selanjutnya, slide ditetesi dengan antibodi primer (anti bodi primer:FBS 5% = 1:100) dalam blocking buffer BSA, diinkubasi satu malam dalam suhu 4°C. Keesokan harinya slide dicuci dengan PBS steril 3x5 menit. Diinkubasi dengan antibodi sekunder anti-IgG rabbit anti-mouse selama 60 menit suhu ruang, dan dicuci dengan PBS steril 3x5 menit. Setelah itu slide ditetesi dengan SAHRP (SAHRP dalam PBS steril 1:500), diinkubasi 40 menit suhu ruang, dicuci dengan PBS steril 3x5 menit, dan dicuci dengan aquades steril 3x5 menit kemudian ditambahkan kromogen DAB (1:50), diinkubasi 30 menit suhu ruang, dan dicuci PBS steril 3x5 menit. Terakhir slide *dicounterstain* dengan hematoksin mayer, diinkubasi 5 -10 menit suhu ruang, dan dicuci dengan *tap water* steril 3x5 menit.

Slide diamati dengan mikroskop perbesaran 1000x dan ekspresi TNF-  $\alpha$  dideteksi dari warna coklat ekstraseluler pada jaringan hati. Untuk perhitungan persentase TNF-  $\alpha$  dihitung berdasarkan jumlah ekspresi TNF-  $\alpha$  dalam inti sel dan ekstraseluler di hati.

#### **4.7.8 Pemeriksaan Anemia**

Dilakukan dengan mengukur kadar hemoglobin mencit menggunakan metode Cyanmethemoglobin. Pengenceran darah dilakukan menggunakan larutan Drabkins. Pengukuran absorbansi larutan dilakukan dengan spektrofotometer pada gelombang 540 nm. Pertama-tama darah pada vial dihisap dengan pipet hemoglobin sekitar 0,5 ml kemudian darah dimasukkan dalam tabung reaksi berisi 5 ml larutan Drabkins. Untuk mencampur dan oksigenasi, pipet ditiup keras pada dasar tabung. Kemudian larutan darah dipindah ke dalam cuvette spektrofotometer dan dibaca dengan gelombang 540 nm. Larutan Drabkins digunakan sebagai blanko . Kadar Hb mencit normal sekitar 13-16 gr/100 ml. Maka jika  $< 13$  gr/100 ml dianggap sebagai anemia.

#### 4.8 Alur Penelitian



**Gambar 4.2. Diagram Alur Penelitian**

#### **4.9 Analisis Data**

Data dikumpulkan kemudian diolah menggunakan program *Statistical Product and Service Solutions* (SPSS) versi 21. Terlebih dahulu pada data dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji *Levene*. Uji normalitas dilakukan terhadap setiap variabel pada masing-masing kelompok perlakuan dengan tujuan mengetahui apakah data terdistribusi normal atau tidak. Nilai  $P > 0,05$  menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Uji homogenitas ragam dilakukan untuk mengetahui kesamaan ragam antar kelompok perlakuan. Nilai  $P > 0,05$  menunjukkan ragam antar kelompok adalah homogen.

Kedua uji tersebut merupakan syarat penggunaan uji *Analysis of Variance* (ANOVA) yang bertujuan untuk menguji ada tidaknya perbedaan berbagai kelompok perlakuan. Apabila diperoleh nilai signifikansi atau  $P < 0,05$  maka menunjukkan adanya perbedaan signifikan, sehingga dapat dilanjutkan menggunakan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) untuk menguji perbedaan masing-masing kelompok perlakuan. Namun, apabila data tidak terdistribusi normal maka dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dilanjutkan uji *Mann Whitney* jika didapatkan hasil yang signifikan. Kemudian dilakukan uji korelasi Spearman untuk melihat apakah terdapat hubungan antara TNF- $\alpha$  dan Angka Kejadian Anemia, Nilai signifikansi  $< 0,05$  menyatakan adanya korelasi atau hubungan.

#### **4.10 Etika Penelitian**

Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang telah

memberikan *ethical clearance* pada penelitian ini dengan nomer Surat Pernyataan Laik Etik No 028/EC/KEPK-FKIK/2020. Secara *in vivo*, hewan coba diperlakukan sebaik mungkin supaya tidak menyakiti saat perlakuan. Metode dislokasi leher yang sesuai dengan teknik eutanasia pada hewan coba.

**BAB V**

**HASIL PENELITIAN**



**BAB VI**  
**PEMBAHASAN**

## **BAB VII**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **7.1 Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian, dapat ditarik kesimpulan bahwa:

1. Terdapat hubungan yang signifikan antara pemberian ekstrak buah pare terhadap penurunan ekspresi TNF- $\alpha$  pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. Pemberian ekstrak buah pare mampu menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  pada dosis 0,5 mg/grBB.
2. Tidak didapatkan hubungan yang signifikan secara statistik antara pemberian ekstrak buah pare terhadap penurunan angka kejadian anemia pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*. Ekstrak buah pare mampu meningkatkan hemoglobin pada dosis 0,25 mg/grBB secara tidak signifikan.

#### **7.2 Saran**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan adalah :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa dalam buah pare yang memiliki peran dalam menurunkan ekspresi TNF- $\alpha$  pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian ekstrak buah pare pada mencit Balb/c yang diinfeksi

*Plasmodium berghei* untuk mengetahui efektivitas dan toksisitas ekstrak buah pare terhadap angka kejadian anemia.

3. Perlu diberikan asupan tambahan pada hewan coba yang mengandung banyak nutrisi selama pemberian ekstrak buah pare agar dapat mengurangi angka kejadian anemia lebih optimal.
4. Perlu dilakukan penelitian mengenai dosis obat profilaksis yang tepat ketika akan melakukan perjalanan ke daerah endemis malaria.
5. Perlu dilakukan penelitian dengan durasi waktu lebih panjang agar dapat mengetahui pengaruh pemberian ekstrak buah pare pada mencit Balb/c yang diinfeksi *Plasmodium berghei* secara lebih baik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdillah, S., Farida, Y. 2019. Antimalarial Activity And Toxicity Evaluation Of The Alkaloid-Rich Fraction of *Momordica charantia* Fruits. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 10, 7.
- Adah, D., Yang, Y.J., Liu, Q., Qin, Limei, Qin, Li, Chen, X. 2016. Pre-erythrocytic Stage of Malaria Infection and the Molecular Targets Available for Interventions. *J. Adv. Parasitol.* 3, 132–141.
- Ahmad, N., Hasan, N., Ahmad, Z., Zishan, M., Zohrameena, S. 2016. *Momordica charantia* : For Traditional Uses And Pharmacological Actions. *J. Drug Deliv. Ther.* 6, 40–44.
- Akanji, O.C., Cyril Olutayo, C.M., Elufioye, O.T., Ogunsusi, O.O. 2016. The Antimalaria Effect of *Momordica charantia* L. and *Mirabilis jalapa* Leaf Extracts Using Animal Model. *J. Med. Plants Res.* 10, 344–350.
- Amutha, J., Devi, I. 2019. Review on Alkaloidal and Non Alkaloidal Natural Products of Antimalarial Drugs 8.
- Antony, H.A., Das, S., Parija, S.C., Padhi, S., 2016. Sequence Analysis of Pfcrt and Pfmdr1 Genes and Its Association with Chloroquine Resistance in Southeast Indian *Plasmodium falciparum* Isolates. *Genomics Data* 8, 85–90.
- Asyari, A., 2019. Pengaruh Pemberian Biskuit Ubi Jalar, Tempe, dan Minyak Sawit Merah terhadap Kadar Hemoglobin (Hb) Ibu Menyusui di Kecamatan Medan Tuntungan Tahun 2019. Skripsi 80.
- Azlin, E., 2016. Obat Anti Malaria. SP 5, 150.
- Bartoloni, A., Zammarchi, L. 2012. Clinical Aspects Of Uncomplicated And Severe Malaria. *Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis.* 4, e2012026.
- Basir, R., Rahiman, S.F., Hasballah, K., Chong, W., Talib, H., Yam, M., Jabbarzare, M., Tie, T., Othman, F., Moklas, M., Abdullah, W., Ahmad, Z., 2012. *Plasmodium berghei* ANKA Infection in ICR Mice as a Model of Cerebral Malaria 7, 13.

- Bintari, I.G., 2016. Deteksi *Aeromonas hydrophila* Pada Ginjal Mencit (*Mus musculus*) Dengan Teknik Imunohistokimia 70.
- Braga, C.B. e, Martins, A.C., Cayotopa, A.D.E., Klein, W.W., Schlosser, A.R., Silva, A.F. da, Souza, M.N. de, Andrade, B.W.B., Filgueira-Júnior, J.A., Pinto, W. de J., da Silva-Nunes, M. 2015. Side Effects of Chloroquine and Primaquine and Symptom Reduction in Malaria Endemic Area (Mâncio Lima, Acre, Brazil). *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.* 2015, 1–7.
- Centers for Disease Control and Prevention*. Treatment of Malaria: Guidelines for Clinicians (United States) ([https://www.cdc.gov/malaria/resources/pdf/Malaria\\_Treatment\\_Guidelines.pdf](https://www.cdc.gov/malaria/resources/pdf/Malaria_Treatment_Guidelines.pdf) November 2020)
- Chen, Q., Schlichtherle, M., Wahlgren, M. 2000. Molecular Aspects of Severe Malaria. *Clin Microbiol Rev* 13, 12.
- Clark, I.A., Budd, A.C., Alleva, L.M., Cowden, W.B. 2006. Human Malarial Disease: A Consequence of Inflammatory Cytokine Release. *Malar. J.* 5, 85.
- Constant, S.L., Bottomly, K., 1997. Induction of Th1 and Th2 CD4<sup>+</sup> T Cell Responses: The Alternative Approaches. *Annu. Rev. Immunol.* 15, 297–322.
- Cowman, A.F., Crabb, B.S. 2006. Invasion of Red Blood Cells by Malaria Parasites. *Cell* 124, 755–766.
- Cruz, L.N., Wu, Y., Ulrich, H., Craig, A.G., Garcia, C.R.S. 2016. Tumor Necrosis Factor Reduces *Plasmodium falciparum* Growth and Activates Calcium Signaling in Human Malaria Parasites. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gen. Subj.* 1860, 1489–1497.
- Cui, L., Mharakurwa, S., Ndiaye, D., Rathod, P.K., Rosenthal, P.J. 2015. Antimalarial Drug Resistance: Literature Review and Activities and Findings of the ICEMR Network. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 93, 57–68.
- Darmawan, R., n.d. Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu 59.

- Dehghan, H., Oshaghi, M.A., Mosa-Kazemi, S.H., Abai, M.R., Rafie, F., Nateghpour, M., Farivar, L., Bavani, M.M., 2018. Experimental Study on *Plasmodium berghei*, *Anopheles Stephensi*, and BALB/c Mouse System: Implications for Malaria Transmission Blocking Assays. *Iran J Parasitol* 13, 11.
- Depinay, N., Franetich, J.F., Grüner, A.C., Mauduit, M., Chavatte, J.-M., Luty, A.J.F., van Gemert, G.-J., Sauerwein, R.W., Siksik, J.-M., Hannoun, L., Mazier, D., Snounou, G., Rénia, L., 2011. Inhibitory Effect of TNF- $\alpha$  on Malaria Pre-Erythrocytic Stage Development: Influence of Host Hepatocyte/Parasite Combinations. *PLoS ONE* 6, e17464.
- Douradinha, B., Doolan, D.L. 2011. Harnessing Immune Responses Against *Plasmodium* for Rational Vaccine Design. *Trends in Parasitology* 27, 274–283.
- Gahayu, Sri A. 2015. *Metodologi Penelitian Kesehatan Masyarakat*. Deepublish. Yogyakarta
- Gimenez, F., Barraud de Lagerie, S., Fernandez, C., Pino, P., Mazier, D. 2003. Tumor Necrosis Factor ? In The Pathogenesis of Cerebral Malaria. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 60, 1623–1635.
- Gupta, M., Sharma, S., Gautam, A.K., Bhadauria, R., 2011. *Momordica charantia* Linn. (Karela) : Nature's Silent Healer 11, 7.
- Hafalla, J.C., Silvie, O., Matuschewski, K. 2011. Cell Biology and Immunology Of Malaria: *Plasmodium*/Host Interactions. *Immunol. Rev.* 240, 297–316.
- Haldar, K., Mohandas, N., 2009. Malaria, erythrocytic infection, and anemia. *Hematology* 2009, 87–93.
- Helmi, H., Afriyansyah, B., Ekasari, W., 2016. The Effectiveness of Local Plants from Lom and Sawang Ethnics as Antimalarial Medicine. *Biosaintifika J. Biol. Biol. Educ.* 8, 193.
- Hilou, A., Nacoulma, O.G., Guiguemde, T.R., 2006. In vivo antimalarial activities of extracts from *Amaranthus spinosus* L. and *Boerhaavia erecta* L. in mice. *J. Ethnopharmacol.* 103, 236–240.

- Irawati, L. 2014. Hubungan Tumor Necrosis Factor-Alfa (Tnf-A) dengan Kadar Hemoglobin dan Parasitemia pada Infeksi Malaria Falciparum. J. Kesehat. Andalas 3.
- Irawati, L., Acang, N., Irawati, N., 2008. Majalah Kedokteran Andalas. . Vol. 32, 13.
- Ivanova, E.A., Orekhov, A.N., 2015. T Helper Lymphocyte Subsets and Plasticity in Autoimmunity and Cancer: An Overview. BioMed Res. Int. 2015, 1–9.
- Kimia, J., Malang, M.M.I., n.d. Rochisotur Rahmah NIM. 08630028 169.
- Kinra, P., & Dutta, V. 2013. Serum TNF alpha Levels: A Prognostic Marker for Assessment of Severity of Malaria. *Tropical biomedicine*, 30(4), 645–653.
- Kumar, A., Chery, L., Biswas, C., Dubhashi, N., Dutta, P., Dua, V.K., Kacchap, M., Kakati, S., Khandeparkar, A., Kour, D., Mahajan, S.N., Maji, A., Majumder, P., Mohanta, J., Mohapatra, P.K., Narayanasamy, K., Roy, K., Shastri, J., Valecha, N., Vikash, R., Wani, R., White, J., Rathod, P.K. 2012. Malaria in South Asia: Prevalence and Control. *Acta Trop.* 121, 246–255.
- Lamikanra, A.A., Brown, D., Potocnik, A., Casals-Pascual, C., Langhorne, J., Roberts, D.J., 2007. Malarial anemia: of mice and men 110, 12.
- Leão, L., Puty, B., Dolabela, M.F., Povia, M.M., Né, Y.G.D.S., Eiró, L.G., Fagundes, N.C.F., Maia, L.C., Lima, R.R., 2020. Association of cerebral malaria and TNF- $\alpha$  levels: a systematic review. *BMC Infect. Dis.* 20, 442.
- Lehane, A.M., Saliba, K.J., 2008. Common dietary flavonoids inhibit the growth of the intraerythrocytic malaria parasite. *BMC Res. Notes* 1, 26.
- Lucumi, E., n.d. Structural Determination of Triclosan Derivates As Inhibitors of Plasmodium falciparum Enoyl Reductase (PfPfr) 109.
- M Taek, M., Prajogo EW, B., Agil, M., 2018. Ethnomedicinal Plants Used for the Treatment of Malaria in Malaka, West Timor. *J. Young Pharm.* 10, 187–
- Maggio-Price, L., Brookoff, D., Weiss, L., 1985. Changes in hematopoietic stem cells in bone marrow of mice with Plasmodium berghei malaria. *Blood* 66, 1080–1085.

- Marhamah, M., Husna, I., 2019. Aktivitas Antimalaria Tanaman Tali Kuning (Anamirta cocculus) Terhadap Plasmodium sp. J. Ilmu Kedokt. Dan Kesehat. 6, 66–74.
- Mawuntu, A. H. 2018. Malaria Serebral : Cerebral Malaria. *Jurnal Sinaps*, 1(3), 1-21.
- Miller, L.H., Baruch, D.I., Marsh, K., Doumbo, O.K., 2002. The Pathogenic Basis of Malaria. *Nature* 415, 673–679.
- Mischitelli, M., Jemaà, M., Almasry, M., Faggio, C., Lang, F., 2016. Stimulation of Erythrocyte Cell Membrane Scrambling by Quinine. *Cell. Physiol. Biochem.* 40, 657–667.
- Mohammadmoradi, S., Howatt, D.A., Lu, H.S., Daugherty, A., Saha, S.P., 2020. Bitter Melon (*Momordica charantia* L.) Supplementation Has No Effect on Hypercholesterolemia and Atherosclerosis in Mice. *Curr. Dev. Nutr.* 4, nzaa148.
- Mohandas, N., An, X., 2012. Malaria and human red blood cells. *Med. Microbiol. Immunol. (Berl.)* 201, 593–598.
- Morceau, F., Dicato, M., Diederich, M., 2009. Pro-Inflammatory Cytokine-Mediated Anemia: Regarding Molecular Mechanisms of Erythropoiesis. *Mediators Inflamm.* 2009, 1–11.
- Mozaniel, S. de O., Wanessa, A. da C., Fernanda, W.F.B., Marilena, E.A., Gracialda, C.F., Raul, N. de C.J., 2018. Phytochemical profile and biological activities of *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae): A review. *Afr. J. Biotechnol.* 17, 829–846.
- Muftikah, D.M., n.d. Disusun Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Agama (S.Ag.) 76.
- Mulyastuti, Y., Widiyanti, A., Ali, M., Iskandar, A., Enggar Fitri, L., 2004. Efek Kombinasi Klorokuin dan N-acetyl Cysteine terhadap Jumlah Trombosit Mencit Galur Balb/c yang Diinfeksi Plasmodium berghei. *J. Kedokt. Brawijaya* 20, 38–45.
- Muti'ah, R., 2013. Penyakit Malaria dan Mekanisme Kerja Obat-Obat Antimalaria. *Alchemy*.



- Nguyen-Pouplin, J., Tran, Hop, Tran, Hung, Phan, T.A., Dolecek, C., Farrar, J., Tran, T.H., Caron, P., Bodo, B., Grellier, P., 2007. Antimalarial and cytotoxic activities of ethnopharmacologically selected medicinal plants from South Vietnam. *J. Ethnopharmacol.* 109, 417–427.
- Nkrumah, B., Nguah, S.B., Sarpong, N., Dekker, D., Idriss, A., May, J., Adu-Sarkodie, Y., 2011. Hemoglobin estimation by the HemoCue® portable hemoglobin photometer in a resource poor setting. *BMC Clin. Pathol.* 11, 5.
- Nurhayati, D., 2008. Resistensi *Plasmodium vivax* terhadap klorokuin. . Vol. 11.
- Perera, M.K., Herath, N.P., Pathirana, S.L., Phone-Kyaw, M., Alles, H.K., Mendis, K.N., Premawansa, S., Handunnetti, S.M., 2013. Association of high plasma TNF-alpha levels and TNF-alpha/IL-10 ratios with TNF2 allele in severe *P. falciparum* malaria patients in Sri Lanka. *Pathog. Glob. Health* 107, 21–29.
- Perkins, D.J., Were, T., Davenport, G.C., Kempaiah, P., Hittner, J.B., Ong'echa, J.M., 2011. Severe Malarial Anemia: Innate Immunity and Pathogenesis. *Int. J. Biol. Sci.* 7, 1427–1442.
- Presson, J., 2018. Review: Senyawa Bahan Alam Terrestrial dengan Aktivitas Antimalaria 5.
- Qahtani, S.A.A., n.d. Drug-induced megaloblastic, aplastic, and hemolytic anemias: current concepts of pathophysiology and treatment 12.
- Rajendran, R., n.d. Efek ekstrak momordica charantia l. Terhadap kadar enzim transaminase hati pada mencit swiss yang diinfeksi plasmodium berghei 63.
- Rasti, N., Wahlgren, M., Chen, Q., 2004. Molecular aspects of malaria pathogenesis. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 41, 9–26.
- Rudrapal, M., Chetia, D., 2016. Plant Flavonoids as Potential Source of Future Antimalarial leads. *Syst. Rev. Pharm.* 8, 13–18.
- Saeed, F., Afzaal, M., Niaz, B., Arshad, M.U., Tufail, T., Hussain, M.B., Javed, A., 2018. Bitter melon ( *Momordica charantia* ): a natural healthy vegetable. *Int. J. Food Prop.* 21, 1270–1290.

- Saleh, I., Handayani, D., Anwar, C., 2014. Polymorphisms in the *pfert* and *pfmdr1* genes in *Plasmodium falciparum* isolates from South Sumatera, Indonesia. *Med. J. Indones.* 3.
- Satriani. 2010. Analisis Kadar  $\beta$ -Katroten Dagung Buah Pare (*Momordica charantia* L) Asal Daerah Kabupaten Bone dan Gowa Secara Spektrofotometri *UV-Vis*. Skripsi. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar
- Schofield, L., Grau, G.E., 2005a. Immunological processes in malaria pathogenesis. *Nat. Rev. Immunol.* 5, 722–735.
- Suhartanto, H., Yanuar, A., Bustamam, A., Azizah, A.Y., Wibisono, A., Hilman, M.H., n.d. Performance Analysis of Molecular Dynamics Simulation of PfENR Enzyme using AMBER on Cluster and GPU computing environment 11.
- Susilawati, S., Hermansyah, H., 2014. Uji Potensi Antiplasmodium Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap *Plasmodium falciparum*. *Molekul* 9, 13.
- Sutjahjono, R.W., Ginanjar, P., 2001. Fenomena Formasi Roset pada Patofisiologi *Malaria Falciparum* 5, 6.
- Swaminathan, V., 2011. Efek Ekstrak Biji Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Gambaran Histopatologi Hepar Pada Mencit Swiss yang Diinfeksi *Plasmodium berghei* ANKA. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret 93.
- Swaminathan, V., 2016. The Study of Hepatotoxicity Effect of *Momordica charantia* on Rat's Liver. *Biochem. Anal. Biochem.* 05.
- Tan, T.M.C., Goh, K.L., Binh, L.N., Ting, R.C.Y., Kara, U.A.K., 1996. Identification of a *Plasmodium berghei* antigen sharing common features with *P. falciparum* and *P. chabaudi* parasitophorous-vacuole membrane antigens. *Parasitol. Res.* 82, 130–135.
- Temitope, A., 2014. Effect of *Momordica charantia* (Bitter Melon) Leaves on Haemoglobin Concentration in Male Albino Rats. *Int. Blood Res. Rev.* 2, 82–86.

- Vaughan, A.M., Aly, A.S.I., Kappe, S.H.I., 2008. Malaria Parasite Pre-Erythrocytic Stage Infection: Gliding and Hiding. *Cell Host Microbe* 4, 209–218.
- Wahyuniati, N., Maulana, R., n.d. Peran Interleukin-10 Pada Infeksi Malaria 9.
- White, Nicholas J., 2018. Anaemia and malaria. *Malar. J.* 17, 371.
- Widyawaruyanti, A., Zaini, N.C., n.d. Mekanisme dan Aktivitas Antimalaria dari Senyawa Flavonoid yang Diisolasi dari Cempedak (*Artocarpus Champeden*) 13, 11.
- Wijaya, J.K.I., 2019. Ulasan Pustaka Potensi Pare (*Momordica carantia* L.) 2, 7.
- World Health Organization, Global Malaria Programme, 2019. Guidelines for malaria vector control.
- Yazdani, S., Mukherjee, P., Chauhan, V., Chitnis, C., 2006. Immune Responses to Asexual Blood-Stages of Malaria Parasites. *Curr. Mol. Med.* 6, 187–203.
- Zhou, W., Wang, H., Yang, Y., Chen, Z.-S., Zou, C., Zhang, J., 2020. Chloroquine against malaria, cancers and viral diseases. *Drug Discov. Today* S1359644620303676.
- Ziegler, H.L., Franzyk, H., Sairafianpour, M., Tabatabai, M., Tehrani, M.D., Bagherzadeh, K., Hägerstrand, H., Stærk, D., Jaroszewski, J.W., 2004. Erythrocyte membrane modifying agents and the inhibition of *Plasmodium falciparum* growth. *Bioorg. Med. Chem.* 12, 119–127.
- Zivot, A., Lipton, J.M., Narla, A., Blanc, L., 2018. Erythropoiesis: insights into pathophysiology and treatments in 2017. *Mol. Med.* 24, 11.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Ethical Clearance KEPK FKIK UIN Malang

	<p>FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG <b>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN</b> Gedung Klinik UNMI 02 Jalan Gajayana No. 80, Dirmay, Kiri Lawakan, Kota Malang Email: <a href="mailto:kepk.fkik@uin-malang.ac.id">kepk.fkik@uin-malang.ac.id</a> • Website: <a href="http://www.kepk.fkik@uin-malang.ac.id">http://www.kepk.fkik@uin-malang.ac.id</a></p>
	<p><b>KETERANGAN KELAikan ETIK</b> <b>(ETHICAL CLEARANCE)</b> No. 028/EC/KEPK-FKIK/2020</p>

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN(KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN UIN MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG TELAH MENPELAJARI DENGAN SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG DIUSULKAN :

Judul	Konstruksi Model Matematika Interaksi Makrofag, Limfosit, Dan Sitokin Para Penyakit Malaria Yang Diterapi Dengan Ekstrak Buah Pare ( <i>Momodica charantia</i> L)
Sub Judul	Konstruksi Model Matematika Interaksi Makrofag, Limfosit, Dan Sitokin Para Penyakit Malaria Yang Diterapi Dengan Ekstrak Buah Pare ( <i>Momodica charantia</i> L)
Peneliti	<ul style="list-style-type: none"><li>• Dr. zainabur rahmah, S.Si,M.Si</li><li>• Dr. Usman Pagalay, M.Si</li><li>• dr. Nurianti Indriana, Sp. OG</li><li>• dr. Alvi Milliana, M. Biomed</li><li>• dr. Riskiyana, MMR</li><li>• Nur Iedha Tertiana</li><li>• Dina Absharina Wulandari</li></ul>
Unit / Lembaga	Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Tempat Penelitian	• laboratorium Parasitologi Jurusan Pendidikan Dokter UIN Maulana Malik Ibrahim Malang

DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA PENELITIAN TERSEBUT TELAH MEMENUHI SYARAT ATAU LAIK ETIK.

Malang, 2 Oktober 2020  
Ketua



dr. Ayin Ainur F, M.Biomed  
NIP. 19800203200912 2 002

**Keterangan :**

- Keterangan Laik Etik ini berlaku 1 (satu) tahun sejak tanggal dikeluarkan.
- Pada akhir penelitian, laporan Pelaksanaan Penelitian harus diserahkan kepada KEPK-FKIK dalam bentuk soft copy.
- Apabila ada perubahan protokol dan/atau Perpanjangan penelitian, harus mengajukan kembali permohonan Kajian Etik Penelitian (Amendemen Protokol).

**Lampiran 2. Hasil Pengukuran Berat Badan Mencit**

Kelompok	No	Tanggal						Nilai Rata
		17	18	19	20	21	22	
K	1	25	25	26	26	26	24	25,3
	2	26	25	26	26	26	27	26
	3	31	29	31	31	30	29	30,2
	4	22	23	23	23	22	20	22,2
	5	28	27	28	29	29	28	28,2
	6	22	22	22	22	21	21	21,7
P1	1	31	31	31	29	27	26	29,1
	2	29	27	27	26	25	23	26,2
	3	27	27	28	24	23	22	25,1
	4	26	25	27	27	27	27	26,5
	5	31	31	35	32	30	28	31,2
	6	28	28	28	25	23	23	25,8
P2	1	24	25	26	24	23	22	24
	2	26	26	27	25	23	22	24,8
	3	27	29	28	27	25	24	26,7
	4	22	22	23	21	19	18	20,8
	5	24	25	25	23	22	19	23
	6	26	27	26	25	23	22	24,8
P3	1	21	21	22	22	21	19	21
	2	25	24	24	22	20	19	22,3
	3	23	22	23	22	20	20	21,7
	4	21	22	23	22	20	20	21,3
	5	20	21	22	21	19	18	20,2
	6	24	25	26	24	22	21	23,7

### Lampiran 3. Hasil Pemeriksaan Hemoglobin Mencit

No	Anemia			
	K	P1	P2	P3
1	24 Tidak anemia	11,4 Anemia	5,4 Anemia	14,9 Tidak anemia
2	11,3 Anemia	36 Tidak anemia	9,4 Anemia	7 Anemia
3	12,9 Anemia	6,7 Anemia	6 Anemia	9,4 Anemia
4	5,4 Anemia	12,9 Anemia	6,2 Anemia	23 Tidak anemia
5	11,5 Anemia	10,5 Anemia	8,5 Anemia	7,7 Anemia
6	5,1 Anemia	9,2 Anemia	10 Anemia	12 Anemia

### Lampiran 4. Hasil Perhitungan TNF- $\alpha$

No	TNF- $\alpha$			
	K	P1	P2	P3
1	7,89	4,87	1,34	1,56
2	6,53	5,89	2,18	2,4
3	8,54	3,12	1,14	1,67
4	9,80	4,18	1,16	1,5
5	10,79	2,32	2,03	1,32
6	11,34	3,56	1,50	1,72

## Lampiran 5. Uji Normalitas

### Tests of Normality

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
TNF Alfa	K	.149	6	.200 <sup>*</sup>	.965	6	.856
	P1	.132	6	.200 <sup>*</sup>	.990	6	.990
	P2	.219	6	.200 <sup>*</sup>	.865	6	.206
	P3	.307	6	.081	.844	6	.140

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

## Lampiran 6. Uji Homogenitas Ragam

### Test of Homogeneity of Variances

TNF Alfa

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
6.629	3	20	.003

## Lampiran 7. Uji Deskriptif

### Descriptives

TNF Alfa

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		

K	6	9.148	1.8293	.7468	7.229	11.068	6.5	11.3
P1	6	3.990	1.2768	.5213	2.650	5.330	2.3	5.9
P2	6	1.558	.4458	.1820	1.090	2.026	1.1	2.2
P3	6	1.695	.3729	.1522	1.304	2.086	1.3	2.4
Total	24	4.098	3.3168	.6770	2.697	5.498	1.1	11.3

**Perlakuan \* Kejadian Anemia Crosstabulation**

			Kejadian Anemia		Total
			Tidak anemia	Anemia	
Perlakuan K	Count		1	5	6
	% within Perlakuan		16.7%	83.3%	100.0%
P1	Count		1	5	6
	% within Perlakuan		16.7%	83.3%	100.0%
P2	Count		0	6	6
	% within Perlakuan		0.0%	100.0%	100.0%
P3	Count		2	4	6
	% within Perlakuan		33.3%	66.7%	100.0%
Total	Count		4	20	24
	% within Perlakuan		16.7%	83.3%	100.0%

**Lampiran 8. Uji ANOVA**



## ANOVA

TNF Alfa

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	226.451	3	75.484	56.814	.000
Within Groups	26.572	20	1.329		
Total	253.023	23			

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: TNF Alfa

LSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
K	P1	5.1583 <sup>*</sup>	.6655	.000	3.770	6.547
	P2	7.5900 <sup>*</sup>	.6655	.000	6.202	8.978
	P3	7.4533 <sup>*</sup>	.6655	.000	6.065	8.842
P1	K	-5.1583 <sup>*</sup>	.6655	.000	-6.547	-3.770
	P2	2.4317 <sup>*</sup>	.6655	.002	1.043	3.820
	P3	2.2950 <sup>*</sup>	.6655	.003	.907	3.683
P2	K	-7.5900 <sup>*</sup>	.6655	.000	-8.978	-6.202
	P1	-2.4317 <sup>*</sup>	.6655	.002	-3.820	-1.043
	P3	-.1367	.6655	.839	-1.525	1.252
P3	K	-7.4533 <sup>*</sup>	.6655	.000	-8.842	-6.065
	P1	-2.2950 <sup>*</sup>	.6655	.003	-3.683	-.907

P2	.1367	.6655	.839	-1.252	1.525
----	-------	-------	------	--------	-------

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

### Lampiran 9. Uji Kruskal Wallis

#### Ranks

	Perlakuan	N	Mean Rank
Kejadian Anemia	K	6	12.50
	P1	6	12.50
	P2	6	14.50
	P3	6	10.50
	Total	24	

#### Test Statistics<sup>a,b</sup>

	Kejadian Anemia
Chi-Square	2.300
df	3
Asymp. Sig.	.513

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable:  
Perlakuan

### Lampiran 10. Uji Korelasi Spearman

#### Correlations

			TNF Alfa	Anemia
Spearman's rho	TNF Alfa	Correlation	1.000	-.008
		Coefficient		
		Sig. (2-tailed)	.	.970
	Anemia	N	24	24
		Correlation	-.008	1.000
		Coefficient		
		Sig. (2-tailed)	.970	.
		N	24	24

## Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian



Ekstrak buah pare



Kandang mencit



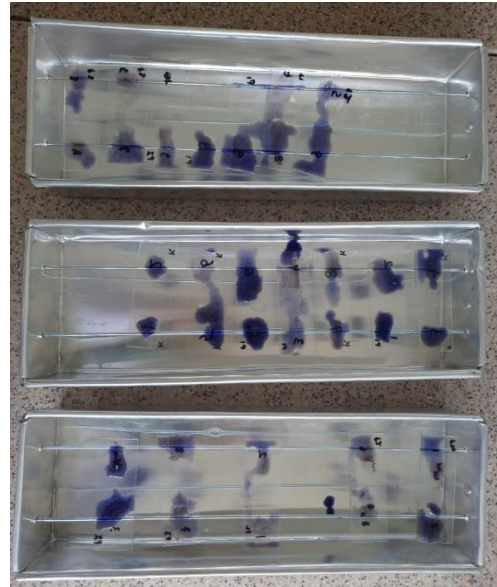
Parasit mencit donor



Infeksi *Plasmodium berghei* pada mencit secara intraperitoneal



Penimbangan berat badan mencit



Pembuatan apusan darah dan pewarnaan giemsa



Pemberian sonde lambung ekstrak buah pare pada mencit



Terminasi, pembedahan, dan isolasi darah serta organ mencit